

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии имени С. И. Гельберга

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ МИКРОБИОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ И ИНФЕКТОЛОГИИ

*Сборник материалов
межвузовской научно-практической конференции*

29 октября 2021 г.

Гродно
ГрГМУ
2021

УДК 616_093)-098+612.017.1+616.9]:005.745(06)

ББК 52.64+28.074+55.14я43

A437

Рекомендовано Редакционно-издательским советом ГрГМУ (протокол № 11 от 22 сентября 2021 г.).

Редколлегия: зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», д-р мед. наук, проф. В. М. Шейбак;
доц. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», канд. биол. наук, доц. М. В. Горецкая;
доц. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», канд. мед. наук, доц. Т. Н. Соколова.

Рецензенты: зав. каф. нормальной физиологии учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», д-р мед. наук, проф. В. В. Зинчук;
зав. каф. лучевой диагностики и лучевой терапии учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», канд. мед. наук, доц. А. С. Александрович;
доц. каф. лучевой диагностики и лучевой терапии учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», канд. биол. наук, доц. Т. И. Зиматкина.

Актуальные вопросы микробиологии, иммунологии и инфектологии : сборник материалов межвузовской научно-практической конференции, (29 октября 2021 г.) [Электронный ресурс] / В. М. Шейбак, М. В. Горецкая, Т. Н. Соколова. – Гродно : ГрГМУ, 2021. – Электрон. текст. дан. (объем 3,0 Мб). – 1 эл. опт. диск (CD-ROM).

ISBN 978-985-595-653-3.

В сборнике представлены работы, посвященные актуальным вопросам микробиологии. Авторы статей обсуждают проблемы современной диагностики инфекционных заболеваний, ряд статей посвящены туберкулезу, коронавирусной инфекции, проводят анализ состава и антибиотикорезистентности микроорганизмов, оценивают особенности антибактериальной терапии, новые подходы к изучению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам. Отражены иммунологические аспекты, вопросы вакцинации, особенности микробиома организма человека. Рассматриваются вопросы современного образования. Содержащаяся в сборнике информация будет полезна студентам, научным и медицинским работникам, широкому кругу преподавателей университетов.

УДК 616_093)-098+612.017.1+616.9]:005.745(06)

ББК 52.64+28.074+55.14я43

ISBN 978-985-595-653-3

© ГрГМУ, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

Часть I АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ МИКРОБИОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ И ИНФЕКТОЛОГИИ	7
ДЕЛАМАНИД В ЛЕЧЕНИИ ТУБЕРКУЛЕЗА С ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ	7
<i>Авчинко В.П., Гуревич Г.Л., Серeda Ю., Солодовникова В.В., Сеткина С.Б., Ветушко Д.А., Скрягин А.Г., Дюсьмикеева М.И., Скрягина Е.М.</i>	<i>7</i>
САХАРНЫЙ ДИАБЕТ И ТУБЕРКУЛЕЗ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ ВОЗБУДИТЕЛЯ.....	9
<i>Авчинко В.П., Глинская Т.Н., Шпаковская Н.С., Дюсьмикеева М.И., Скрягина Е.М.</i>	<i>9</i>
ВЛИЯНИЕ ЗЛОУПОТРЕБЛЕНИЯ АЛКОГОЛЕМ НА РАЗВИТИЕ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ ПОБОЧНЫХ РЕАКЦИЙ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ СТРАДАЮЩИХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ МИКОБАКТЕРИЙ.....	11
<i>Алексо Е.Н., Вольф С.Б., Демидик С.Н., Шейфер Ю.А., Циунчик А.В. ...</i>	<i>11</i>
ВЛИЯНИЕ ПРИСУТСТВИЯ ТРИПТОФАНА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА <i>CANDIDA</i> К ДОКСИЦИКЛИНУ.....	13
<i>Артюх Т.В., Островская О.Б., Случич О.И.</i>	<i>13</i>
ПЕРСИСТЕНЦИЯ КАК МЕХАНИЗМ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ	17
<i>Артюх Т.В., Соколова Т.Н., Сидорович Е.А.</i>	<i>17</i>
ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С МИКОБАКТЕРИОЗОМ ЛЕГКИХ.....	22
<i>Богущ Л.С., Скрягина Е.М., Давидовская Е.И., Яцкевич Н.В., Стринович А.Л., Шаламовский В.В., Дюсьмикеева М.И., Кривошеева Ж.И.</i>	<i>22</i>
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ <i>KLEBSIELLA PNEUMONIA</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19.....	25
<i>Волосач О.С., Кузьмич И.А.</i>	<i>25</i>
ВИДОВОЙ СПЕКТР ВОЗБУДИТЕЛЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19.....	28
<i>Волосач О.С., Черняк Л.К.</i>	<i>28</i>
ФЕРМЕНТЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И СЕКРЕТОРНЫЕ IgA С АБЗИМНОЙ АКТИВНОСТЬЮ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ПЕРИОДОНТИТОМ.....	31
<i>Генералов И.И., Коротина О.Л., Генералова А.Г.</i>	<i>31</i>
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХЛОРИДА КАЛЬЦИЯ С ЦЕЛЬЮ УДАЛЕНИЯ ФИБРИНОГЕНА ИЗ ЦИТРАТНОЙ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ ПЛАЗМЫ К АФФИННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ	34
<i>Генералов С.И., Жерулик С.В., Павлов Ю.А., Сушкова С.А.</i>	<i>34</i>

ЛИДИРУЮЩИЕ ВАКЦИНЫ ОТ SARS-CoV-2.....	36
<i>Горецкая М.В.</i>	36
СТРАТЕГИИ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ВАКЦИН ОТ SARS-COV-2	40
<i>Горецкая М.В., Шейбак В.М.</i>	40
АНТИТЕЛА ПРОТИВ SARS-COV-2	44
<i>Горецкая М.В., Шейбак В.М.</i>	44
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАСКИ В УСЛОВИЯХ КОРОНАВИРУСНОЙ ПАНДЕМИИ.....	48
<i>Грищенко А.Н., Меленец М.А., Зинчук В.В.</i>	48
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ ТУБЕРКУЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ СРОКАМИ АМБУЛАТОРНОГО И СТАЦИОНАРНОГО ЭТАПОВ ЛЕЧЕНИЯ.....	51
<i>Гуревич Г.Л., Климук Д.А., Калечиц О.М., Скрягина Е.М., Бобрукевич Е.Л., Тышко М.А., Данькова А.В., Ильясова Е.В., Соколовская В.В., Глинская Т.Н., Дюсьмикеева М.И.</i>	51
ИСХОД ЛЕЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВОГО ТУБЕРКУЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ	53
<i>Демидик С.Н., Алексо Е.Н., Вольф С.Б.</i>	53
КОМПОЗИЦИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО СРЕДСТВА С ШИРОКИМ СПЕКТРОМ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ	55
<i>Джаббар Мустафа Салех Джаббар, Кузнецов О.Е.</i>	55
НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА КАК ЭФФЕКТИВНОЕ СРЕДСТВО БОРЬБЫ С АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫМИ ФОРМАМИ KLEBSIELLA PNEUMONIAE	58
<i>Довнар Р.И., Васильков А.Ю., Соколова Т.Н., Бутенко И.Е.</i>	58
АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ С ВРЕМЕННОЙ УТРАТОЙ ТРУДОСПОСОБНОСТИ СРЕДИ МЕДИЦИНСКИХ СОТРУДНИКОВ ГУЗ «ГОССМП».....	61
<i>Доста А.М., Харланцева Е.В., Марцулевич В.М.</i>	61
КАТАЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТОК И ИММУНОГЛОБУЛИНОВ У ПАЦИЕНТОК С НОВООБРАЗОВАНИЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.....	63
<i>Жерулик С.В., Павлов Ю.А., Сушкова С.А.</i>	63
АКТИВНОСТЬ ЦЕФИДЕРОКОЛА И ДРУГИХ НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ В ОТНОШЕНИИ XDR-ШТАММОВ KLEBSIELLA PNEUMONIAE.....	65
<i>Карпова Е.В., Топальский Д.В.</i>	65
СТАБИЛИЗАЦИЯ ПРИСТЕНОЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ АМИНОЗОЛЕМ В УСЛОВИЯХ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ	68
<i>Николаева И.В.</i>	68
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА И МИКРОБИОТА ВВЕДЕНИИ АЦЕТАМИНОФЕНА	71
<i>Николаева И.В., Островская О.Б., Шейбак В.М.</i>	71

HELICOBACTER PYLORI В ПОПУЛЯЦИИ В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД.....	74
<i>Обаиди Ясин Али Абдулла, Кузнецов О.Е.</i>	74
ПРОБИОТИКИ КАК ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ И ВСПОМОГАТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ	77
<i>Островцова С.А.</i>	77
РОЛЬ ИНТЕРФЕРЕНЦИИ ВИРУСОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ.....	81
<i>Островцова С.А.</i>	81
МУТАЦИОННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ К ПОЛИМИКСИНАМ У ЭКСТРЕМАЛЬНО-АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ШТАММОВ KLEBSIELLA PNEUMONIAE.....	85
<i>Петровская Т.А., Карпова Е.В., Тапальский Д.В., Баранов О.Ю.</i>	85
АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТЬ У ПАЦИЕНТОВ С ПНЕВМОНИЕЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИСКУССТВЕННОЙ ВЕНТИЛЯЦИИ ЛЕГКИХ	87
<i>Предко В.А.</i>	87
ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОЧУСТВИТЕЛЬНОСТИ В РЕАНИМАЦИОННОМ ОТДЕЛЕНИИ У ПАЦИЕНТОВ С СЕПСИСОМ	89
<i>Предко В.А.</i>	89
РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ И ВКУСОВОЙ ДИСФУНКЦИИ У ЛИЦ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19 (ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНКЕТИРОВАНИЯ)	92
<i>Сидорович Е.А., Аскерко М.К., Высоцкая М.Ю.</i>	92
ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ПАЦИЕНТОВ ХИРУРГИЧЕСКИХ ОТДЕЛЕНИЙ УЗ «ГРОДНЕНСКАЯ УНИВЕРСИТЕТСКАЯ КЛИНИКА» ЗА 2020 ГОД	94
<i>Сидорович Е.А., Чернова Н.Н., Янович Р.В.</i>	94
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОРОЖДЕННЫХ С ИНФЕКЦИЕЙ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА.....	98
<i>Синица Л.Н., Пальцева А.И., Козич А.А., Дырман Т.В.</i>	98
НОВЫЕ И ПЕРЕПРОФИЛИРОВАННЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА В ЛЕЧЕНИИ РИФАМПИЦИН-УСТОЙЧИВОГО ТУБЕРКУЛЕЗА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ.....	100
<i>Скрягина Е.М., Климук Д.А., Ветушко Д.А., Солодовникова В.В., Ильясова Е.В., Тышко М.А., Данькова А.В., Глинская Т.Н., Дюсьмикеева М.И.</i>	100
ДЕЛАМАНИД И БЕДАКВИЛИН В ЛЕЧЕНИИ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С МНОЖЕСТВЕННО И ШИРОКО ЛЕКАРСТВЕННО УСТОЙЧИВЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ	102
<i>Солодовникова В.В., Гуревич Г.Л., Серета Ю., Авчинко В.П., Климук Д.А., Скрягин А.Е., Дюсьмикеева М.И., Ветушко Д.А.,</i>	

<i>Сеткина С.Б., Черныш И.П., Кривошеева Ж.И., Бабченко И.В., Скрягина Е.М.</i>	<i>102</i>
ОПЫТ ВКЛЮЧЕНИЯ НОВЫХ И ПЕРЕПРОФИЛИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В СХЕМУ ЛЕЧЕНИЯ ТУБЕРКУЛЕЗА С ШИРОКОЙ И ПРЕ-ШИРОКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ ВОЗБУДИТЕЛЯ.....	105
<i>Солодовникова В.В., Гуревич Г.Л., Ветушко Д.А., Климук Д.А., Скрягин А.Е., Дюсьмикеева М.И., Глинская Т.Н., Апанасевич Т.О., Скрягина Е.М.</i>	<i>105</i>
КОНКУРЕНТОСПОСОБНОСТЬ ЭКСТРЕМАЛЬНО- АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> И <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i>	108
<i>Тапальский Д.В., Пиляк А.В.</i>	<i>108</i>
ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВТОРИЧНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19.....	113
<i>Черняк Л.К., Волосач О.С.</i>	<i>113</i>
СКРИНИНГ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФИЦИРОВАННОСТИ С ПОМОЩЬЮ ТЕСТА, ОСНОВАННОГО НА ВЫСВОБОЖДЕНИИ ГАММА- ИНТЕРФЕРОНА В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ COVID-19.....	116
<i>Шаламовский В.В., Стринович А.Л., Суркова Л.К., Будник О.А., Бахтина А.Д.</i>	<i>116</i>
РОЛЬ S, N, M, E БЕЛКОВ В РАЗВИТИИ SARS-COV-2 ВАКЦИН.....	119
<i>Шейбак В.М., Горецкая М.В.</i>	<i>119</i>
ПОКАЗАТЕЛИ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ И ТЕЧЕНИЕ РАННЕГО НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА У ДЕТЕЙ ОТ МАТЕРЕЙ, ПЕРЕБОЛЕВШИХ В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ COVID-19.....	123
<i>Шейбак Л.Н., Можджер В.В., Бык М.Г.</i>	<i>123</i>
Часть II ВОПРОСЫ ПРЕПОДАВАНИЯ.....	126
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ WIFI-ТЕХНОЛОГИИ В ОПРОСЕ СТУДЕНТОВ.....	126
<i>Жмакин А.И.</i>	<i>126</i>

ЧАСТЬ I

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ МИКРОБИОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ И ИНФЕКТОЛОГИИ

ДЕЛАМАНИД В ЛЕЧЕНИИ ТУБЕРКУЛЕЗА С ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

*Авчинко В.П.¹, Гуревич Г.Л.¹, Середя Ю.², Солодовникова В.В.¹, Сеткина С.Б.³,
Ветушко Д.А.¹, Скрягин А.Г.⁴, Дюсьмикеева М.И.¹, Скрягина Е.М.¹*

¹Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр
пульмонологии и фтизиатрии», г. Минск, Беларусь

²Всемирная Организация Здравоохранения, Европейское региональное бюро,
Копенгаген, Дания

³РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении», г. Минск, Беларусь

⁴Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь

Актуальность. Чуть более половины пациентов с множественным лекарственно-устойчивым туберкулезом (МЛУ-ТБ) или туберкулезом с устойчивостью к рифампицину (РУ/МЛУ-ТБ) имеют успешные результаты лечения [1]. Неудачи в лечении в первую очередь связаны с более низкой эффективностью и серьезными нежелательными явлениями противотуберкулезных лекарственных средств (ПТЛС) и длительными сроками лечения [2].

Новые противотуберкулезные препараты, такие как бедаквилин и деламамид, были одобрены ВОЗ для лечения пациентов с М/ШЛУ-ТБ и доступны в Беларуси для использования на программном уровне. Согласно данным ранее проведенных исследований деламамид считается безопасным для использования у пациентов с М/ШЛУ-ТБ [3].

Цель. Оценить частоту, степень тяжести, серьезность нежелательных явлений (НЯ), в том числе со стороны сердечно-сосудистой системы.

Материалы и методы исследования. Когортное исследование, включающее анализ вторичных данных. Данные получены из медицинских карт, данных регистра «Туберкулез».

В исследование включены взрослые пациенты (18 лет и старше) с М/ШЛУ-ТБ начавшие лечение, содержащее деламамид, с июня 2016 г. по февраль 2018 г. в Республиканском научно-практическом центре пульмонологии и туберкулеза и шести противотуберкулезных учреждениях.

Схемы лечения назначались Республиканским консилиумом по лечению МЛУ-ТБ в соответствии с рекомендациями ВОЗ и клиническим протоколом [4, 20]. Деламамид назначался на срок 24 недели, при необходимости этот срок продлевался.

Эффективность лечения оценивалась по результатам микроскопии, посеву мокроты, клиническим данным. Рентгенография грудной клетки

проводилась один раз в три месяца во время интенсивной фазы и один раз в шесть месяцев во время фазы продолжения.

НЯ классифицировались согласно международному словарю MedDRA (Medical Dictionary for Regulatory Activities). Для оценки степени тяжести НЯ использовалась классификация СТСАЕ (Common Terminology Criteria for Adverse Events) [22]. Определение серьезности НЯ проводилось согласно дефинициям ICH (The international Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use), исходы лечения – согласно клиническому руководству и рекомендациям ВОЗ.

Окончательные исходы лечения были классифицированы как успешные (излечение и лечение завершено) и неудачные (смерть, потеря для наблюдения, неудача, не оценивались).

Результаты. В исследование включены 125 взрослых пациентов, находившихся на лечении с М/ШЛУ-ТБ. Преобладали мужчины (90, 72%), курящие 79 (63%), средний возраст (SD) составлял 43 года. В структуре клинических форм туберкулеза преобладала легочная форма ТБ (97%) с деструктивными проявлениями (60%). У 85 пациентов (68%) был диагностирован туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ), у 7 пациентов (6%) – с множественной лекарственной устойчивостью и устойчивостью к фторхинолонам (преШЛУ(Fq)), у 26 пациентов (21%) – с множественной лекарственной устойчивостью и устойчивостью к инъекционным препаратам (преШЛУ(Inq)) МЛУ-ТБ – у 7 пациентов (6%). Около 30% пациентов имели исходные изменения на ЭКГ (неспецифическое изменение сегмента ST, отклонение зубца Т, перегрузка правого предсердия и др.), при этом не было зафиксировано удлинение QTcF до начала лечения. Все пациенты получали деламаид, в 16% случаев пациенты получали и деламаид, и бедаквилин. Средняя продолжительность применения деламаида составляла 6 месяцев (IQR: 5,5-8,3; диапазон: 1,5-24 месяца). Почти половина (49%) пациентов получали деламаид более шести месяцев лечения.

НЯ регистрировались в 100% случаев. Всего было зарегистрировано 831 НЯ. Наиболее частыми были нарушения обмена веществ и метаболизма (193, 23%, IR:7,6 на 100 человеко-месяцев), сердечно-сосудистые НЯ (177, 21%, IR: 7,0 на 100 человеко-месяцев), НЯ со стороны системы кровотока и лимфатической системы (107, 13%, IR: 4,2 на 100 человеко-месяцев). Наибольшая частота сердечно-сосудистых НЯ регистрировалась в течение первого месяца лечения, с последующим снижением количества случаев. Среди сердечно-сосудистых НЯ наиболее часто выявлялось удлинение QTcF (64/177, 36%), другие отклонения на ЭКГ регистрировались в 23% (40/177). Всего у 91 из 125 пациентов (73%) были выявлены сердечно-сосудистые НЯ. Большинство НЯ были легкой степени и не требовали корректировки дозы или отмены препарата (временного или постоянного). Было зарегистрировано два серьезных сердечно-сосудистых НЯ с летальным исходом, не связанных с терапией деламаидом. В одном случае смерть наступила через семь месяцев после отмены деламаида, в другом была тяжелая форма туберкулезного

менингита на фоне прогрессирования ВИЧ-инфекции. Большинство (90%) НЯ разрешились к концу лечения, средняя длительность проявления НЯ составило 72 (IQR: 31-105) дня.

Коморбидная сердечно-сосудистая патология, исходные изменения на ЭКГ были связаны с повышенным риском развития НЯ. В многофакторном анализе мужской пол ((aHR) 0,72; 95% ДИ 0,51–0,998) и исходные изменения на ЭКГ ((aHR) 1,68; 95% ДИ 1,19–2,36) были связаны с сердечно-сосудистыми НЯ. Одновременное применение бедаквилина и деламаида не было связано с повышенным риском сердечно-сосудистых НЯ. Гепатит С был единственным фактором, связанным с неудачными исходами лечения у пациентов с М/ШЛУ-ТБ (aHR 3,61; 95% доверительный интервал 1,09–11,95).

Выводы. Деламаид-содержащие режимы являются безопасными и имеют благоприятный профиль сердечно-сосудистой безопасности. Несмотря на то, что у большинства пациентов наблюдалось большое число НЯ, в том числе со стороны сердечно-сосудистой системы, большинство из них были легкой степени тяжести, легко управляемы и разрешались к концу лечения.

Литература

1. WHO.Global tuberculosis report 2020.Geneva; available from: https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/
2. Halleux CM, Falzon D, Merle C, et al. The world health organization global aDSM database: generating evidence on the safety of new treatment regimens for drug-resistant tuberculosis. Eur Respir J 2018;51:1701643.
3. WHO. Consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment. Geneva; 2019 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539517/>

САХАРНЫЙ ДИАБЕТ И ТУБЕРКУЛЕЗ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ ВОЗБУДИТЕЛЯ

*Авчинко В.П., Глинская Т.Н., Шпаковская Н.С., Дюсьмикеева М.И.,
Скрягина Е.М.*

ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии»,
г. Минск, Республика Беларусь

Актуальность. В последние годы число пациентов с сахарным диабетом (СД) и туберкулезом (ТБ) возросло во всем мире [1]. Заболеваемость ТБ среди пациентов с СД выше в 3-11 раз, чем у остального населения[2].

Длительная химиотерапия противотуберкулезными лекарственными средствами (ПТЛС) сопровождается большим количеством нежелательных явлений (НЯ), включая развитие нарушений гликемического статуса. С другой стороны, наличие СД является одним из факторов риска неэффективного лечения ТБ, включая более длительные сроки наступления абациллирования [3].

Цель. Оценить эффективность лечения пациентов с множественно и широко лекарственно-устойчивым туберкулезом и сопутствующим сахарным

диабетом 2 типа.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования являются данные медицинской документации и данные республиканского регистра «Туберкулез» о взрослых пациентах (18 лет и старше) с туберкулезом с множественной и широкой лекарственной устойчивостью (М/ШЛУ-ТБ) и коморбидным СД, получавших противотуберкулезное лечение в РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии в стационарных условиях в 2015-2020 гг. (49 человек). Использовались общепринятые методы оценки клинических, лабораторных и рентгенологических признаков ТБ в соответствии с клиническими протоколами.

Результаты. Удельный вес пациентов с коморбидным СД в структуре стационарных пациентов с М/ШЛУ-ТБ составил 6,8% (49/723), с СД 2 типа – 3,7% (27/723), СД 1 типа – 2,5% (18/723), специфическим СД – 0,6% (4/723). Среди пациентов с СД 2 типа преобладали мужчины (21/27, 78%). Возраст пациентов варьировал от 20 до 76. Медиана возраста пациентов составила 56 лет. Туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) у пациентов с СД 2 типа был диагностирован в 37% случаев, в 22% – с множественной лекарственной устойчивостью и устойчивостью к фторхинолонам (преШЛУ(Fq)), в 26% – с множественной лекарственной устойчивостью и устойчивостью к инъекционным препаратам (преШЛУ(Inq)), с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) 15%. Преобладали неработающие пациенты (18/27, 67%), проживающие в городской местности (21/27, 78%), курящие (17/27, 63%), с повышенной и избыточной массой тела (15/27, 56%).

В структуре клинических форм ТБ у пациентов с СД 2 типа преобладала инфильтративная форма туберкулеза (23/27, 85%), с деструкцией (19/27, 70%). Микобактерии туберкулеза (МБТ) в мокроте были обнаружены в 96 % (26/27) случаев, у 1 пациента диагноз подтвержден гистологически. Микроскопически КУБ в мокроте были выявлены у 13 пациентов (49%). В начале лечения у трети пациентов (10/27, 37%) гликированный гемоглобин составил более 7,0%, что указывает на декомпенсацию нарушений углеводного обмена.

Новые лекарственные средства Vdq и/или Dlm получали 78% (21/27) пациентов, 22% (6/27) – предыдущие стандартные схемы лечения. Анализ эффективности лечения пациентов показал – прекращение бактериовыделения через 6 месяцев удалось достигнуть у пациентов с СД 2 типа в 63% (17/27) случаев. Эффективность лечения по результатам лечения у пациентов с СД 2 типа составила 67% (18/27). Проведен сравнительный анализ эффективности лечения длительной химиотерапии пациентов с М/ШЛУ-ТБ и коморбидным СД 2 типа (n=27) и когорты пациентов с М/ШЛУ-ТБ за 2018 г. (n=1209). Имеется тенденция к ухудшению показателей эффективности лечения 67% и 73,9% соответственно ($\chi^2 < 0,706$, $p = 0,401$, $p > 0,05$). Изучение вопроса продолжается. Абациллирование по посеву через 6 месяцев у пациентов с СД 2 типа и М/ШЛУ-ТБ (n=27) и когорты пациентов с М/ШЛУ-ТБ за 6 месяцев 2020 г. (n=441) составила 63% и 80,7% соответственно ($\chi^2 = 4,96$, $p = 0,026$, $< 0,05$).

Выводы. Имеется тенденция к ухудшению показателей эффективности

лечения пациентов с М/ШЛУ-ТБ и СД по сравнению с пациентами с М/ШЛУ-ТБ без коморбидной патологии (67% и 73,9% соответственно, $\chi^2 < 0,706$, $p = 0,401$, $p > 0,05$). Отмечается недостаточно высокий процент абациллирования по посеву через 6 месяцев (63%), а также корреляция между эффективностью лечения и компенсацией СД 2 типа.

Литература

1. Krishnappa D. Impact of tuberculosis on glycaemic status: A neglected association / D. Krishnappa, S.K. Sharma, A.D. Singh, S. Sinha, A.C. Ammini, and M. Soneja // *Indi. J. Med. Res.* – 2019. – Vol. 149. – № 3. – P. 384–388.

2. Комиссарова О.Г. Туберкулез легких с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя у больных сахарным диабетом / О.Г. Комиссарова, Р.Ю. Абдуллаев, С.В. Алешина, В. В. Романов // *Consilium Medicum.* – 2018. – Vol. 20. – № 4. – P. 29–32.

3. Association of diabetes and tuberculosis: Impact on treatment and post-treatment outcomes / M. E. Jimínez-Corona [et al.] // *Thorax* . – 2013. – Vol. 68. – №3. – P. 214–220.

ВЛИЯНИЕ ЗЛОУПОТРЕБЛЕНИЯ АЛКОГОЛЕМ НА РАЗВИТИЕ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ ПОБОЧНЫХ РЕАКЦИЙ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ СТРАДАЮЩИХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ МИКОБАКТЕРИЙ

Алексю Е.Н., Вольф С.Б., Демидик С.Н., Шейфер Ю.А., Циунчик А.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра фтизиопульмонологии

Актуальность. В настоящее время, несмотря на снижение распространенности туберкулеза (ТБ) и смертности от него, сохраняется ряд факторов, оказывающих негативное влияние на течение туберкулезного процесса [1]. Прежде всего, это лекарственная устойчивость туберкулезных микобактерий (МБТ) и наличие у пациентов отягощающих факторов, к которым относятся злоупотребление алкоголем [2].

В настоящее время в стационаре при лечении туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) в течение 8 месяцев одновременно назначается 5–6 противотуберкулезных лекарственных средств, преимущественно резервных, с относительно высокой токсичностью.

Цель. Оценка влияния злоупотребления алкоголем на развитие нежелательных побочных реакций и эффективность терапии у пациентов с туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью микобактерий (МЛУ-ТБ).

Материалы и методы исследования. Обследовано 366 пациентов с МЛУ-ТБ, находившихся на стационарном лечении. Из них: 203 пациента, злоупотребляющих алкоголем – 1-я группа; 163 – не злоупотребляющих алкоголем – 2-я группа. По методике химиотерапии группы значительно не различались между собой.

Результаты. Установлено, что нежелательные побочные реакции (НПР) в

1-й группе возникли у 170 пациентов (83,7%), во 2-й группе – у 118 (72,4%), $p < 0,05$. Аллергические НПР выявлены в 1-й группе у 28 (13,8%) пациентов, во 2-й – у 19 (11,6%), $p > 0,05$. Токсические НПР достоверно чаще обнаруживались у злоупотребляющих алкоголем – у 145 (71,4%), тогда как во 2-й группе – у 99 (60,7%), $p < 0,05$. В 1-й группе частота НПР средней тяжести и тяжелых составила 41,9% от общего числа пациентов, что достоверно выше, чем во 2-й группе – 28,2%, $p < 0,05$. Выше был в 1-й группе и показатель неустранимых НПР – 25,8% (42 пациента), против 12,9% (21 пациент) – во 2-ой, $p = 0,05$. В 1-й группе значительно чаще встречались гепатотоксические реакции – у 58 пациентов (28,6%), тогда как во 2-й почти вдвое реже – у 24 (14,7%), $p < 0,05$. В отношении частоты других видов НПР – различие не значимое. Гепатотоксические реакции проявлялись чаще всего в виде значительного или умеренного повышения в крови активности печеночных ферментов – АлАТ и АсАТ, реже – уровня билирубина. Наблюдались также желтушность кожных покровов, тошнота, общая слабость. В одном случае имел место летальный исход от тяжелого токсического гепатита.

При оценке эффективности терапии установлено, что прекращение бактериовыделения, главный показатель эффективности лечения в стационаре, было достигнуто в 1-й группе у 145 (71,4%) пациентов, тогда как во 2-й – у 137 (84,1%), ($p < 0,05$); закрытие полостей распада подтверждено томографическим методом – соответственно у 45 (34,4%) и 28 (38,4%), $p > 0,05$. Значительная и умеренная положительная динамика инфильтративно-очаговых изменений в легких отмечалась у 119 (58,6%) пациентов 1-й группы и 150 (92,4%) – 2-й, $p < 0,05$. В целом стационарное лечение было признано эффективным у 69% пациентов, злоупотребляющих алкоголем и 85,9% – не злоупотребляющих ($p < 0,05$). Умерло от туберкулеза 17 человек (8,4%) в 1-й группе и 1 (0,6%) – во 2-й ($p < 0,01$).

Самовольный уход из стационара до окончания курса интенсивной фазы лечения зафиксирован у 14 (6,9%) пациентов 1-й группы и 2 (1,2%) – 2-й, $p < 0,05$; перевод, преимущественно на принудительное лечение – у 22 (10,8%) и 5 (3,1%) соответственно, $p < 0,05$. Продолжили лечение амбулаторно (фаза продолжения) 150 (73,9%) пациентов 1-ой группы и 155 (95,1%) из 2-й, $p < 0,05$.

При сравнительном анализе отдаленных результатов терапии показатель «успешное лечение» был достигнут у 89 (59,7%) в 1-й группе и у 70 (84,3%) – во 2-й, различие значимо, $p < 0,05$.

Выводы. Таким образом, при МЛУ-ТБ НПР встречаются часто, в целом у 78,7% пациентов. В то же время, среди злоупотребляющих алкоголем значимо чаще, чем у лиц, не злоупотребляющих, за счет токсических НПР, а среди последних – за счет гепатотоксических реакций. Также чаще у лиц со злоупотреблением алкоголем наблюдались более тяжелые и неустранимые НПР.

Таким образом, злоупотребление алкоголем оказывает выраженное негативное влияние практически на все показатели, связанные с результатами стационарного и амбулаторного лечения больных МЛУ-ТБ.

Литература

1. Алекс, Е.Н. Динамика эпидемиологических показателей по туберкулезу в

Гродненской области за 2010-2020 гг. / Е.Н. Алексо, С.Н. Демидик, Т.Г. Санукевич // Инновационные подходы к диагностике, лечению и профилактике туберкулеза и неспецифической респираторной патологии у взрослых и детей : материалы науч.-практ. онлайн конф., с международным участием (25 марта 2021 г.) ; под ред. Б.Т. Даминова. – Ташкент : Fan ziyosi, 2021. – С. 78–79.

2. Алексо, Е.Н. Влияние некоторых факторов на эффективность лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя/ Е. Н. Алексо [и др.] // Актуальные проблемы медицины : сб. материалов итоговой научно-практической конференции (24 января 2020 г.) [Электронный ресурс] / отв. ред. В. А. Снежицкий. – Гродно : ГрГМУ, 2020. – Электрон. текст. дан. (объем 9,5 Мб). – 1 эл. опт. диск (CD-ROM). – С. 145–148.

ВЛИЯНИЕ ПРИСУТСТВИЯ ТРИПТОФАНА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *CANDIDA* К ДОКСИЦИКЛИНУ

Артюх Т.В., Островская О.Б., Случич О.И.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга

Актуальность. Большинство инфекций, вызываемых *C. albicans*, связаны с образованием биопленки на тканях организма-хозяина или на абиотических поверхностях. Образование биопленок, устойчивых ассоциаций микроорганизмов и окружающего их органического матрикса, представляет собой универсальный механизм формирования резистентности к лечебным препаратам и хронизации инфекционного процесса [1].

Устойчивость к противогрибковым препаратам обнаруживается в той или иной степени у всех клинически значимых видов *Candida*. Снижение чувствительности микроорганизмов в составе биопленки выявляет потребность в поиске препаратов активных в отношении биопленочных инфекций либо проявляющих синергетические эффекты в комбинациях с уже используемыми антимикробными препаратами [2].

По немногочисленным исследованиям, среди антибиотиков наиболее активным по отношению к микроорганизмам в составе биопленок является доксициклин [3]. Так как аминокислоты принимают участие в формировании клеточной стенки и контроле над планктонной и биопленочной формами существования, перспективным представляется исследовать аминокислоты на способность модулировать антибактериальный эффект доксициклина. Один из возможных механизмов действия аминокислот и антибиотика на биопленки заключается в том, что аминокислоты диспергируют микробную биопленку, высвобождая сидячие клетки, тем самым облегчая препарату более эффективное проникновение и уничтожение микроорганизмов [4, 5].

Цель. Изучить способность к формированию биопленки грибами рода *Candida*. Установить эффекты, которые оказывает триптофан на чувствительность микроорганизмов рода *C. albicans* к доксициклину в различных формах существования (планктонной, биопленочной).

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись штаммы *C. albicans* 2924. На планктонную форму *C. albicans* воздействовали 3-мя вариантами десятикратных разведений: 1-доксциклин в концентрации (1000 – 0,1 мкг/мл); 2-триптофан (2000 – 0,2 мкг/мл); 3-доксциклин (1000 – 0,1 мкг/мл) + триптофан (2000 – 0,2 мкг/мл); МИК устанавливали по наименьшей концентрации препарата, которая подавляла видимый рост микроорганизма. Концентрацию микробных тел контролировали измерением оптической плотности растворов по шкале McFarland (McF) на детекторе мутности суспензий DEN-1 Biosan до и после инкубации $35\pm 1^\circ\text{C}$, 24 часа. Затем проводили посев из пробирок на среду Сабуро в чашки Петри для регистрации минимальной бактерицидной концентрации и оценки возможной нежелательной мутности исследуемых соединений. Экспозиция 24 ч. при $35\pm 1^\circ\text{C}$. Показатели бактериального роста выражали в ед. McF (при необходимости результаты могут быть переведены в колониеобразующие единицы (КОЕ) в соответствии со стандартами мутности). Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью пакетов прикладных программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 10 с использованием многофакторного дисперсионного анализа. Различия между сравниваемыми параметрами считали достоверными при $p < 0,05$.

Биопленки выращивали в иммунологических планшетах с использованием медных сеточек покрытых формваром для визуализации под электронным микроскопом. Использовали суточную культуру микроорганизмов *C. albicans* в концентрации 0,5 ед. McF. Для выращивания смешанных биопленок использовали суточную культуру *E. coli* и *S. aureus* так же в концентрации 0,5 ед. McF или 1.5×10^8 (КОЕ)/мл. В течение трех дней ежедневно проводили промывку лунок фосфатным буферным раствором (рН 7,2-7,4) для удаления планктонных клеток, затем вносили свежую питательную среду и продолжали инкубировать, а также делали отбор некоторых сеточек для исследования ультраструктуры биопленки с помощью трансмиссионного электронного микроскопа (ТЭМ). На четвертые сутки после очередной промывки в лунки добавляли 3 варианта воздействующих веществ. 1-двойные разведения доксицилина (5000-600 мкг/мл); 2-триптофан в двойных разведениях (2000-250 мкг/мл); 3-доксциклин в двойных разведениях (5000-600 мкг/мл) + триптофан (1000 мкг/мл). Для определения МИК исследуемых веществ на микроорганизмы в составе биопленки применяли модификацию метода определения метаболической активности биопленок с использованием анализа восстановления ХТТ (2,3-бис (2-метокси-4-нитро-5-сульфофенил) -5- [карбонил (фениламино)] – 2Н-гидроксид тетразолия) на основе 1% резазурина. После экспозиции, в течении 24 часов делали промывку и вносили 1% раствор резазурина. После суточной инкубации регистрировали минимальную биопленкоингибирующую концентрацию (МБИК) исследуемых веществ.

Результаты. Эффекты присутствия триптофана на чувствительность планктонных форм *C. albicans* по отношению к доксициклину представлены на рисунке 1.

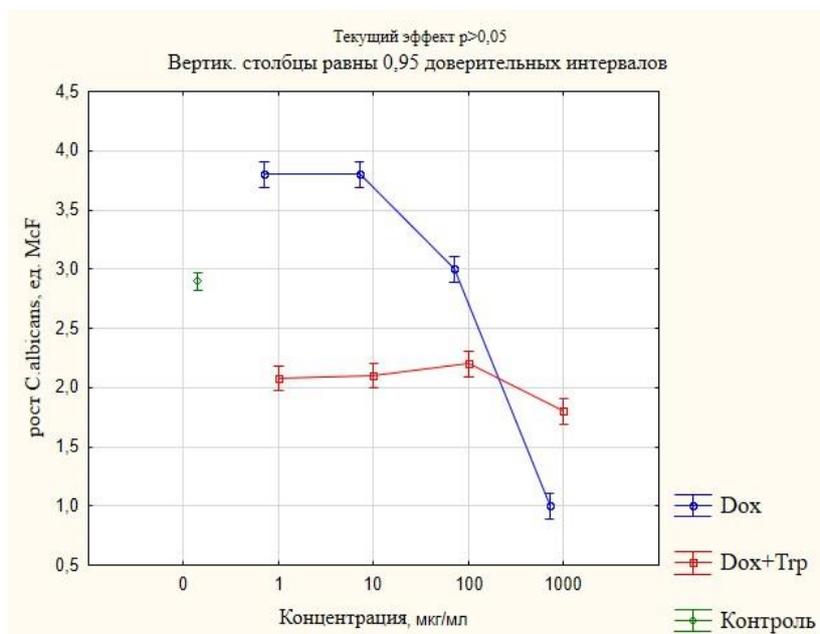


Рисунок 1. – График зависимости роста *C. albicans* от комбинаций препаратов и их концентраций.

МИК доксициклина (первый вариант воздействия) для *C. albicans* в планктонной форме = 1000 мкг/мл. При низких концентрациях (10-0.1 мкг/мл) доксициклина наблюдается увеличение клеток *C. albicans* до 3.8 ед. McF по сравнению с контролем 2.9 ед. McF (количество микроорганизмов без добавления веществ). Триптофан (второй препарат) стимулирует рост *C. albicans* во всех исследуемых концентрациях (2000-0.2 мкг/мл), 3.4 ед. McF [4.2; 2.8] ед. McF по сравнению с контролем 2.9 ед. McF. МИК доксициклина в комбинации с триптофаном (третий вариант воздействия) >1000 мкг/мл. Это подтверждает эффект второго препарата: присутствие триптофана, повышает метаболическую активность кандид в планктонной форме и тем самым снижает антимикробную активность доксициклина.

Электронно-микроскопическое изучение микроорганизмов *C. albicans* показало, что они способны образовывать биопленки (рис. 2). Наиболее плотная биопленка сформировалась на четвертые сутки. На снимках ТЭМ видна адгезия клеток друг к другу и к поверхности формваровой пленки, а также продукция внеклеточного матрикса (рис. 2).

По результатам ХТТ анализа наблюдается снижение антимикробной активности доксициклина в присутствии триптофана в отношении биопленок *C. albicans* (табл. 1). В случае бактериостатического и бактерицидного действия препарата микроорганизмы не проявляют жизнедеятельности и цвет резазурина не изменился (синий), что позволяет говорить о ингибирующей концентрации доксициклина для *C. albicans* в составе моно- и микстбиопленки ≥ 2500 мкг/мл.

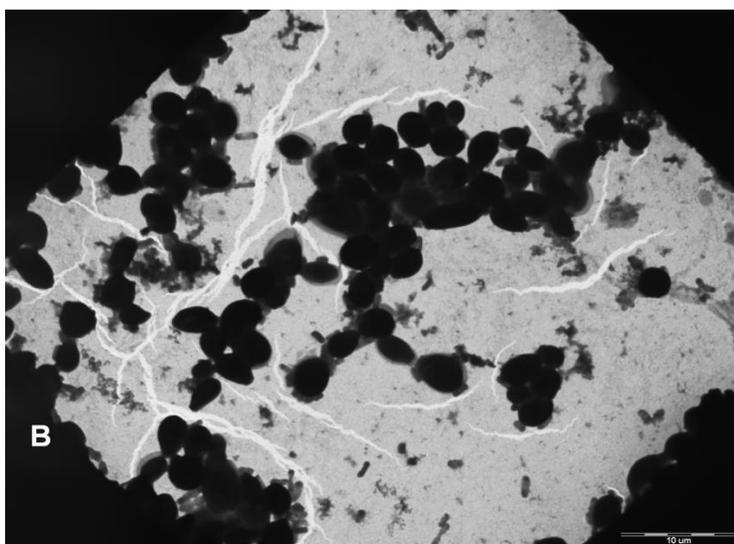


Рисунок 2. – Микстбиопленка *C. Albicans* + *E. coli* при воздействии смеси доксициклина 1200 мкг/мл и триптофана 1000 мкг/мл. Мерный отрезок равен 10 мкм.

В живых клетках митохондрии способны уменьшать количество растворенного субстрата с формированием водорастворимого ярко-розового красителя. Таким образом при устойчивости микроорганизма к препарату, индикатор изменяет цвет на розовый, это наблюдается при снижении концентрации доксициклина 1200-600 мкг/мл в первом варианте. При добавлении триптофана без доксициклина все разведения также имели розовый цвет. При добавлении триптофана к разведениям доксициклина все лунки также имели розовый цвет, что позволяет судить о снижении активности доксициклина в присутствии триптофана. МБИК доксициклина в комбинации с триптофаном >5000 мкг/мл.

Таблица 1. – ХТТ анализ, эффект триптофана на чувствительность *C. albicans* к доксициклину в составе биопленок

Состав биопленки	Контроль (м/о без препаратов)	1. Dox 2500/1200 мкг/мл	2. Trp 1000/500 мкг/мл	3. Dox 2500/1200 мкг/мл +Trp 1000 мкг/мл
N	3	3	3	3
<i>C.albicans</i> в составе монобиопленки	P	C*/P	P#/P	P#/P
<i>C.albicans</i> в составе микстбиопленки	P	C*/P	P#/P	P#/P

Примечание – P – розовый цвет; C – синий цвет; достоверные изменения в сравнении с контролем (*); с группой 1 мкг/мл (#).

Изучение биопленочных структур с использованием ТЭМ при воздействии концентрацией доксициклина 1000 мкг/мл, которая являлась ингибирующей для планктонных форм, продемонстрировало наличие микроорганизмов. Это подтверждает результаты ХТТ анализа, а так же других исследований о том, что МИК антибиотиков для планктонных форм

микроорганизмов в десятки раз меньше по сравнению с их пленочными аналогами [6].

Выводы

1. Исследуемые штаммы *C. albicans* 2924 способны образовывать зрелые биопленки на 4-5 сутки культивирования.

2. Триптофан в концентрации 2000 – 0,2 мкг/мл снижает антимикробную активность доксициклина по отношению к планктонным формам *C. albicans*.

3. Триптофан в концентрации 2000 – 250 мкг/мл по результатам изображений ТЭМ и ХТТ анализа способствуют формированию более плотной биопленки *C. albicans*.

4. Триптофан в концентрации 1000 мкг/мл снижает антимикробную активность доксициклина по отношению к моно- и микстбиопленкам *C. albicans*.

Литература

1. *Candida albicans* – The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection [Electronic resource] / Jasminka Talapko [et al.] // *J Fungi* (Basel). – 2021. – Vol. 7, iss. 2. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7912069/>. – Date of access: 26.09.2021.

2. The impact of the Fungus-Host-Microbiota interplay upon *Candida albicans* infections: current knowledge and new perspectives [Electronic resource] / Christophe d'Enfert [et al.] // *FEMS Microbiol Rev.* – 2021. – Vol. 45, iss. 3. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8100220/>. – Date of access: 30.09.2021.

3. An Optimized Lock Solution Containing Miconazole, Ethanol and Doxycycline Inhibits *Candida albicans* and Mixed *C. albicans* – *Staphylococcus aureus* Biofilms / L. Lown [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, iss. 17.

4. Influence of biofilm growth age, media, antibiotic concentration and exposure time on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilm removal in vitro [Electronic resource] / X. Chen [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2020. – Vol. 20. – Mode of access: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-020-01947-9>. – Date of access: 26.09.2021.

5. Characteristics and influencing factors of amyloid fibers in *S. mutans* biofilm [Electronic resource] / D. Chen [et al.] // *AMB Express.* – 2019. – Vol. 9, iss. 1. – Mode of access: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30820691/>. – Date of access: 29.06.2021.

6. Артюх, Т. В. Особенности резистентности клинических изолятов *E.coli* и *C.albicans* образующих биопленку / Т. В. Артюх, Т. Н. Соколова, О. Б. Островская // *Вестн. ВГМУ.* – 2021. – Т. 20, № 1. – С. 46–54.

ПЕРСИСТЕНЦИЯ КАК МЕХАНИЗМ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Артюх Т.В., Соколова Т.Н., Сидорович Е.А.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

Актуальность. Бактериальные клетки преодолевают негативное влияние антибиотиков используя возможности механизмов резистентности и персистенции. Явление персистенции было открыто в 1944 г. на заре массового

производства пенициллина, однако по настоящий момент остается в тени резистентности.

Впервые на загадочное явление – отсутствие полной стерилизации пенициллином культуры *S. aureus*, обратила внимание американский микробиолог Gladys L. Hobby (1942). Добавление пенициллина к культуре стафилококков приводило к видимому лизису бактерий, то есть к разрушению их клеточной оболочки и гибели клеток. Однако J.W. Bigger (1944), ирландский врач, посеял лизированную культуру на чашки, на которой выросли колонии выживших клеток. После повторного посева эти колонии выросли в культуру, которая снова лизировалась в присутствии пенициллина, и вновь формировала небольшую субпопуляцию, которую Биггер назвал «персисторы», чтобы отличить их от уже известных на тот момент резистентных мутантов, которые при воздействии пенициллина не были бы лизированы вовсе.

Открытие феномена персистенции бактериальных клеток и последующее его изучение позволили расширить представление об адаптационных стратегиях микроорганизмов и механизмах сохранения ими патогенного потенциала [1].

Недавние исследования показывают, что формированию индуцированной персистенции способствуют следующие факторы:

- персисторы образуются случайным образом даже без внешних воздействий на популяцию;
- факторы стресса, например, голодание, окислительный, осмотический стресс, повышают долю персисторных клеток в популяции;
- чувство кворума – межклеточное взаимодействие в составе микробных биопленок реализующееся при помощи химических сигнальных молекул, выделяемых клетками в среду – способствует образованию персисторных клеток;
- иммунное взаимодействие между хозяином и патогеном также вызывает образование персисторов;
- питательные вещества, ограниченно проникающие в глубокие слои биоплёнки, стимулируют перистообразование [2].

Клетки-персисторы представляют собой лишь небольшую часть любой популяции бактерии, в среднем одна клетка-персистор на 100 тысяч обычных.

Клетка, проявляющая свойство персистенции, не имеет специализированных генов или мутаций для защиты от определённого антибиотика, однако у персисторов наблюдается изменение экспрессии генов или активности белков – такое изменение нестойкое и не будет проявляться у потомков этой клетки. Напротив, резистентные клетки всегда сохраняют свое свойство нечувствительности в ряду поколений, так как оно обусловлено изменением генов, а не метаболизма. До воздействия антибиотика клетка-персистор впадает в состояние замедления метаболизма, что позволяет в некоторых случаях предотвратить повреждение клеточной мишени антибиотика (рис. 1).

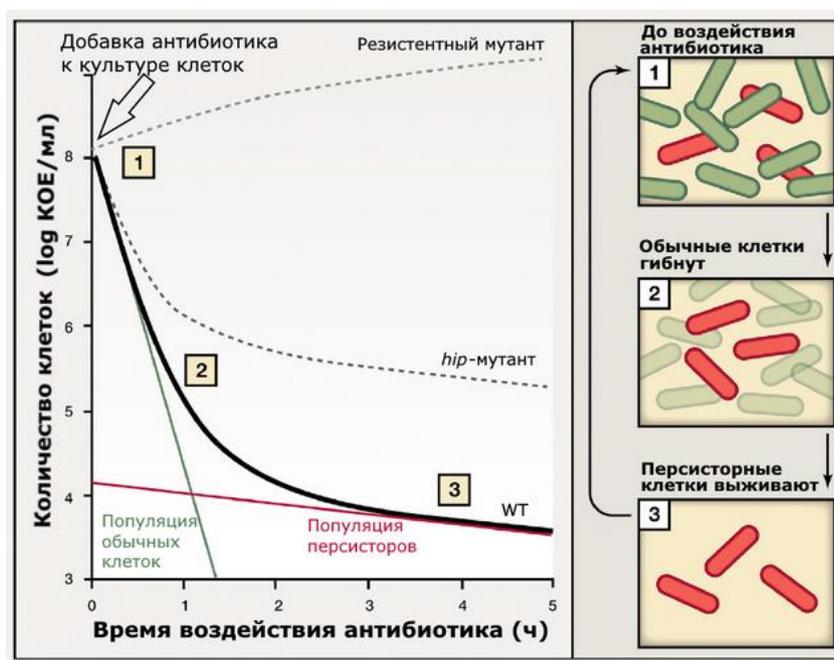


Рисунок 1. – Кривая отмирания при воздействии бактерицидного антибиотика. При добавлении антибиотика (1) культура резистентного мутанта. Клетки в культуре нерезистентного штамма дикого типа будут отмирать, притом большая часть погибнет в самом начале (2) – это популяция обычных клеток. Оставшиеся клетки убывают гораздо медленнее (3), а часть из них (персисторных) выживает до конца инкубации. Нip-мутант имеет повышенную частоту образования персисторов [3].

По окончании лечения персисторы могут восстановить активный метаболизм, размножиться и спустя время вновь привести к возобновлению инфекции. При этом потомство персисторных клеток будет состоять из обычных, чувствительных к антибиотикам клеток. Однако среди них снова сформируется небольшая часть клеток, которая обеспечит выживание в дальнейшем [3].

Выявить клетки-персистеры, ответственные за выживание популяции во время воздействия летальных для основной массы клеток факторов, позволяет конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (Confocal Laser Scanning Microscopy, CLSM). С помощью CLSM используя гены-репортеры, кодирующие флуоресцирующие белки, были определены клетки-персистеры, неоднородность бактерий биопленок, а также удалось показать, что интенсивность горизонтального переноса генов в микробных биопленках выше, чем в планктонных культурах [4]. Так же исследования показывают, что штаммы, выделенные от пациентов с длительным носительством, имеют высокий уровень персистеров, тогда как у штаммов от временного носительства уровень невысок, 9% и 0,2% от популяции соответственно [5].

Персистенция является одной из главных причин трудности лечения многих хронических бактериальных инфекций: туберкулеза, рецидивирующих инфекций мочевыводящих путей, брюшного тифа, стафилококковых инфекций и многих других.

Поскольку персисторы нечувствительны ко всем антибиотикам и для их

эрадикации необходима разработка принципиально новых антимикробных стратегий. С целью поиска веществ способных ингибировать персистенцию был проанализирован геном *E. coli*. Оказалось, что способность к персистенции не снижается в значительной степени ни у одного штамма с одиночной делецией. Это указывает на то, что персистенция реализуется при помощи множества различных генов. После получения *hip*-мутанта *E. coli* (от *high persistence*), который проявлял в 100 раз большую частоту образования персистеров, чем родительский штамм, была обнаружена пара генов (*hipA/hipB*), ответственных за процессы персистенции (рис. 1). Данные гены образуют систему токсин-антитоксин (или ТА-модуль). Кроме того, системы токсин-антитоксин имеют множество других функций: поддержание стабильности плазмид, альтруистическая гибель клетки, противодействие распространению бактериофагов, контроль роста клеток. У каждого вида бактерий десятки таких ТА-модулей. Одним из рекордсменов по их количеству является микобактерия туберкулёза. Разработка вещества на основе ингибирования ТА-модулей оказалась неперспективной по причине того, что в геноме каждой бактерии заключено большое количество подобных модулей и найти лекарство, подавляющее сразу несколько является сложной задачей [6].

Позже было обнаружено, что при удалении из хромосомы генов *relA* и *spoT* *hip*-мутант *E. coli* перестаёт производить повышенное количество персистерных клеток. Результаты исследования уровня генной экспрессии методом ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией показали, что максимальный уровень представленности транскриптов *relA* наблюдается в ранней стационарной фазе, тогда как *spoT* – в поздней стационарной фазе [2]. Гены *relA* и *spoT* кодируют белки алармон синтетазы, которые превращают ГТФ, ГДФ и ГМФ (гуанозинтрифосфат, гуанозиндифосфат и гуанозинмонофосфат) в особые регуляторные молекулы *pppGpp*, *ppGpp* или *pGpp*, в целом обозначаемые *(p)ppGpp*. *(p)ppGpp*-синтетазы бывают двух типов: длинные гомологи *RelA/SpoT* в основном способны и к синтезу, и к гидролизу *(p)ppGpp*, а малые алармон синтетазы – только к синтезу. Еще есть малые алармон гидролазы – они способны только к гидролизу (рис. 2). Эти соединения синтезируются внутри клеток бактерий при неблагоприятных условиях среды (голодание, окислительный стресс, антибиотики и т. д.). Оказалось, что повышение концентрации *(p)ppGpp* в клетке приводит к активации ТА-модулей. Помимо формирования персистентного фенотипа *(p)ppGpp* участвует в стринджент-ответе, но и во множестве других клеточных процессов: адаптации бактерий к стрессу, образовании биоплёнок, контроле скорости роста. У каждого вида бактерий свой набор *(p)ppGpp*-синтезирующих/расщепляющих ферментов [6, 7].

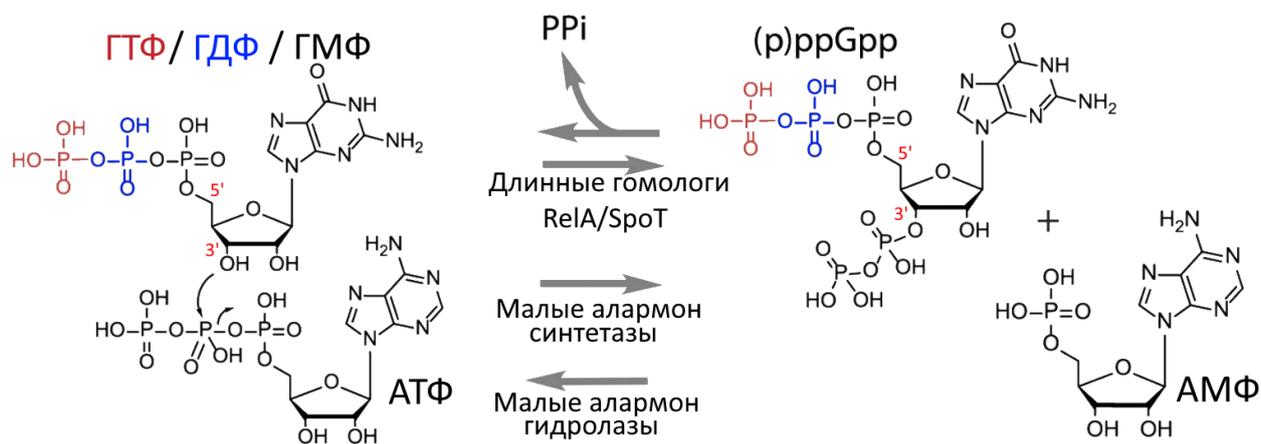


Рисунок 2. – Схема синтеза (p)ppGpp [7].

При удалении у *M. tuberculosis*, гена, ответственного за синтез (p)ppGpp, бактерия теряет способность к долговременному выживанию в условиях стресса и больше не может вызывать латентный туберкулёз. Это было продемонстрировано на модели мышей, заражённых таким штаммом бактерий. Потенциально класс антибиотиков с механизмом действия ингибиторов (p)ppGpp-синтетаз, подавляющий синтез (p)ppGpp может помочь в лечении поздних фаз инфекции и решении проблемы персистенции [7].

Выводы. Механизмы формирования бактериальной персистенции рассматриваются как первый этап в развитии наследственно закрепленных свойств резистентности к антибиотикам. Изучение механизмов устойчивости (персистенции) необходимо для понимания, насколько быстро наличие генетических маркеров антибиотикорезистентности у бактерий становится клинически значимым, каким образом они распространяются в популяции и возможно ли преодолеть резистентность изменением режима применения тех же самых антибиотиков. Результаты исследований анализа генов, ответственных за процессы персистенции, выявляют пути ее преодоления через контроль над (p)ppGpp молекулами и ТА-модулями и, следовательно, в перспективе могут быть использованы для разработки технологии усиления активности традиционных антибиотиков и новых антибактериальных средств.

Литература

1. Андрюков, Б. Г. Молекулярные механизмы персистенции бактерий / Б. Г. Андрюков, И. Н. Ляпун // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2020. – № 3. – С. 271-279.
2. Роль полиаминов в регуляции бактериальной персистенции / А. Г. Ткаченко [и др.] // Вестн. ПФИЦ. – 2020. – № 2. – С. 36-47.
3. Maisonneuve, E. Molecular mechanisms underlying bacterial persisters / E. Maisonneuve, K. Gerdes // Cell. – 2014. – Vol. 157, № 3. – P. 539-548.
4. Артюх, Т. В. Современные способы исследования микробных биопленок кишечника / Т. В. Артюх, Т. Н. Соколова, В. М. Шейбак // Гепатология и гастроэнтерология. – 2021. – Т. 5, № 1. – С. 30–36.
5. Candida species biofilms' antifungal resistance / [Electronic resource] S. Sónia. [et al.] // J Fungi (Basel). – 2017. – Vol. 3, iss. 1. Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5715972/>. – Date of access: 20.09.2021.

6. (p)ppGpp and Its Role in Bacterial Persistence: New Challenges [Electronic resource] / O. Pacios [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 2020. – Vol. 64, iss. 10. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7508602/#>. – Date of access: 26.08.2021.

7. Molecular mutagenesis of ppGpp: turning a RelA activator into an inhibitor [Electronic resource] / J. Beljantseva [et al.] // Scientific reports. – 2017. – Mode of access: <https://www.nature.com/articles/srep41839>. – Date of access: 26.08.2021.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С МИКОБАКТЕРИОЗОМ ЛЕГКИХ

Богуш Л.С.¹, Скрягина Е.М.¹, Давидовская Е.И.¹, Яцкевич Н.В.¹,
Стринович А.Л.¹, Шаламовский В.В.¹, Дюсьмикеева М.И.¹, Кривошеева Ж.И.²

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии»,
г. Минск, Беларусь

Отдел пульмонологии и хирургических методов лечения болезней органов дыхания

²Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь
Кафедра фтизиопульмонологии

Актуальность. В последнее десятилетие во многих странах, в т.ч. и в Республике Беларусь, отмечается рост частоты выделения нетуберкулезных микобактерий (НТМБ) и количества пациентов с микобактериозом легких (МЛ) в десятки раз [1]. Так, согласно результатам мониторинга распространения и видовой принадлежности НТМБ, проведенного в Государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии» за период с 2018 по 2019 гг., было выделено 1282 культуры НТМБ от 616 пациентов с признаками поражения легочной ткани воспалительного и деструктивного характера [1, 2]. Очевидно, что пульмонологи и фтизиатры в нашей стране все чаще сталкиваются с необходимостью лечения пациентов с МЛ. Актуальность проблемы лечения пациентов с МЛ обусловлена видовым разнообразием клинически значимых НТМБ, их природной резистентностью к антибактериальным лекарственным средствам, применяемым при лечении, продолжительностью лечения минимум 12 месяцев [3]. Согласно результатам идентификации выделенных из мокроты культур НТМБ за период 2018–2019 гг. получено 11 клинически значимых видов микобактерий, в т.ч. 7 видов медленно растущих (*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. goodii*, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. celatum*) и 4 вида быстро растущих (*M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. smegmatis*) [1, 2].

В республике, как и во всем мире, нет единых подходов к лечению пациентов с МЛ. Сегодня исследователи определяют лечение пациентов с МЛ как сложную задачу и признают эффективность терапии крайне низкой (для МЛ, вызванных *M. abscessus*, не более 30–50%, для МЛ, вызванных представителями МАС-комплекса – 50–70%). Ведущие эксперты в области респираторной медицины однозначно указывают на то, что при ведении пациентов с МЛ необходимо принимать во внимание ряд факторов как со

стороны микроорганизма (вид НТМБ и ее лекарственную чувствительность), так и со стороны макроорганизма (состояние иммунитета и тяжесть патологического процесса) [3].

Цель. Изучение лекарственной резистентности нетуберкулезных микобактерий – основных возбудителей микобактериозов легких, циркулирующих в Республике Беларусь, и совершенствование режимов антибактериальной терапии микобактериальной инфекции.

Материалы и методы исследования. Для проведения исследования было отобрано 38 пациентов с установленным диагнозом МЛ. Все пациенты имели клиничко–рентгенологические и микробиологические критерии МЛ согласно международным рекомендациям ATS 2007 в модификации 2020 года. Для оценки рентгенологических проявлений МЛ использовались результаты компьютерной томографии высокого разрешения (КТВР). Видовая принадлежность выделенных из мокроты НТМБ устанавливалась путем молекулярно-генетической идентификации с использованием Geno Type Mycobacterium CM/AS (HainLifeScience, Германия), методом гибридизации с ДНК-зондами (LPA). Для определения лекарственной чувствительности (ЛЧ) клинически значимых НТМБ использовались наборы Geno Type NTM–DRver. 1.0 (Hain Life science, Германия) к аминогликозидам и макролидам. Выбор схемы лечения проводился с учетом рекомендаций международного согласительного документа «Treatment of Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease: An Official ATS/ERS/ESCMID/IDSA Clinical Practice Guideline 2020». Обязательно учитывалась видовая принадлежность выделенных НТМБ и результаты их тестирования на ЛЧ к аминогликозидам и макролидам. Предварительный анализ результатов лечения оценивался после 3-х месяцев лечения на основании результатов микроскопии и посевов на плотные питательные среды, а также на основании динамики результатов КТВР.

Материал обработан с помощью с стандартного пакета анализа Excel и программы Statistica 10.0 forWindows. В качестве критического уровня достоверности различий был принят уровень 0,05.

Результаты. Анализ общих характеристик исследуемой группы показал, что Me возраста пациентов с МЛ составляла 61,68 лет (Min – 23, Max – 87 лет), женщин было больше чем мужчин (73,68 и 26,32% соответственно), 89,47% являлись жителями города (преимущественно города Минска) и 78,94% лиц были старше трудоспособного возраста. Большинство пациентов (89,47%) ранее лечения по поводу МЛ не получали, а у 68,42% диагноз микобактериоза легких был выставлен впервые. При проведении микробиологического исследования у 21 (55,26%) пациента в мокроте были обнаружены *M. avium*, у 8 (21,05%) – *M. intracellulare* (всего представителей МАС-комплекса было 76,32%). У оставшихся 9 (23,68%) пациентов с МЛ обнаружена медленнорастущая микобактерия *M. kansasii*. Все выделенные культуры НТМБ показали высокую (в диапазоне 95,23–100%) чувствительность к макролидам и хорошую – к аминогликозидам (в диапазоне 55,55–66,66%). Большая часть

культур *M. avium* имела высокую чувствительность одновременно и к макролидам, и к аминогликозидам – 71,42% (15 из 21). Следует отметить, что часть *M. avium* сохраняла ЛЧ к макролидам при ее отсутствии к аминогликозидам – 5 из 21 (23,8%). В группе *M. intracellulare* чувствительность и к макролидам, и к аминогликозидам выявлена в 5 из 8 культур (62,5%). Еще в 2-х случаях культуры *M. intracellulare* сохраняли ЛЧ к макролидам при ее отсутствии к аминогликозидам. В группе *M. kansasii* ЛЧ к макролидам и аминогликозидам выявлена у 6 из 9 культур и еще у 1-ой – только к макролидам. При рентгенологическом исследовании у пациентов с МЛ часто (86,84%) имели место 2 и более патологических синдрома в легких. Наиболее распространенными патологическими изменениями являлись: очаговые тени (50,0%), перибронхиальная инфильтрация (39,47%), фиброз (36,84%), инфильтраты (34,21%), бронхоэктазия (34,21%). Для выбора схемы лечения были выделены следующие клинические модели: 1) для *M. avium* или *M. intracellulare* или *M. kansasii* при сохраненной чувствительности к макролидам (схема Азитромицин/ Кларитромицин + Этамбутол + Рифампицин); 2) для *M. avium* или *M. intracellulare* или *M. kansasii* при полостной и/или бронхоэктатической форме заболевания и при сохраненной чувствительности к макролидам и аминогликозидам (схема Азитромицин/Кларитромицин + Этамбутол + Рифампицин + Амикацин); для *M. avium* или *M. intracellulare* или *M. kansasii* с неопределенной чувствительностью к макролидам (схема Моксифлоксацин + Этамбутол + Рифампицин). Установлено, что после 3-х месяцев лечения у пациентов с МЛ абациллирование скопически наступило в 92,1% случаев, абациллирование по результатам посевов также в 92,1% случаев. Положительная рентгенологическая динамика в виде уменьшения размеров и количества очагов, рассасывания инфильтративных изменений, уменьшения перибронхиальной инфильтрации отмечалась в 60,52% случаях.

Выводы. По итогам 3-х месячного лечения пациентов с МЛ предварительные результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что заявляемый алгоритм выбора схемы химиотерапии характеризуется хорошей клинико-рентгенологической эффективностью.

Литература

1. Суркова, Л.К. Выделение и идентификация нетуберкулезных микобактерий и диагностика микобактериоза легких в Республике Беларусь / Суркова Л.К., Залуцкая О.М., Скрягина Е.М., Николенко Е.Н., Яцкевич Н.В., Стринович А.Л., Шаламовский В.В., Давидовская Е.И., Богуш Л.С. // Рецепт. – 2020. – Т. 23, № 5. – С. 712–722.

2. Суркова, Л.К. Оценка этиологической роли нетуберкулезных микобактерий в развитии микобактериоза легких / Суркова Л.К., Залуцкая О.М., Николенко Е.Н., Стринович А.Л., Давидовская Е.И., Богуш Л.С. // Рецепт. – 2020. – Т. 23, № 5. – С. 72–729.

3. Богуш, Л.С. Чувствительность нетуберкулезных микобактерий к аминогликозидам и макролидам / Л.С. Богуш, Е.М. Скрягина, Е.И. Давидовская, Л.К. Суркова, Н.В. Яцкевич, Е.Н. Николенко, Ж.И. Кривошеева, В.В. Шаламовский, А.Л. Стринович // Современные проблемы радиационной медицины: от науки к практике, г. Гомель, 29 апреля 2021 г.: Материалы Международной научно–практической конференции. – Гомель, 2021. – С. 83–84.

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19

Волосач О.С.¹, Кузьмич И.А.²

¹Гродненский государственный медицинский университет», Беларусь

Кафедра инфекционных болезней

²УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница», Беларусь

Актуальность. С развитием пандемии инфекции COVID-19 во всех странах мира существенно возросло значение антибиотикорезистентности микроорганизмов, в связи с появлением новых вариантов возбудителей с широким спектром устойчивости при массовом применении различных антибиотиков для купирования осложнений у пациентов новой коронавирусной инфекцией [1]. Избыточное, не всегда оправданное, назначение антибиотиков при коронавирусной инфекции является ведущей причиной роста резистентности актуальных микробных возбудителей к антимикробным препаратам. Среди возбудителей вторичной бактериальной пневмонии значительная роль принадлежит *K. pneumoniae* [2]. Согласно результатам микробиологических исследований российских и зарубежных авторов, у пациентов стационаров выявляется очень высокая частота полирезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, что влияет на тяжесть течения и исход заболевания [3].

Поэтому для проведения рациональной этиотропной терапии бактериальных осложнений у пациентов с инфекцией COVID-19 необходимо динамический контроль за антибиотикорезистентностью данного возбудителя.

Цель. Анализ антибиотикорезистентности клинических изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из нижних дыхательных путей пациентов с инфекцией COVID-19, проходивших лечение в стационарах г. Гродно с апреля 2020 года по август 2021 года.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования явились взрослые пациенты с бактериальной пневмонией, ассоциированной с инфекцией COVID-19, проходившие лечение в стационарах г. Гродно с апреля 2020 года по август 2021 года. Микробиологические исследования проводились на базе бактериологической лаборатории учреждения здравоохранения «Гродненская областная инфекционная больница» (центр коллективного пользования). Материалом для микробиологического исследования явились мокрота и бронхо-альвеолярный лаваж. Для более высокой достоверности результатов, с учетом небольшого количества выделенных культур возбудителей, анализ антибиотикорезистентности проводился без учета возраста и пола пациентов.

Забор биологического материала проводился по классическим микробиологическим методикам. Определение чувствительности к антибиотикам выделенных микроорганизмов проводили на

микробиологическом анализаторе Vitek 2 Compact (Biomerieux). Оценка данных антибиотикограмм микроорганизмов проводилась с помощью аналитической компьютерной программы WHONET (США).

Результаты. Из отделяемого нижних дыхательных путей пациентов с инфекцией COVID-19, пневмония, проходивших лечение в стационарах г. Гродно в указанный период времени были идентифицированы 24 штаммов *K.pneumoniae*. Был проведен подробный анализ антибиотикорезистентности клинических изолятов *K.pneumoniae*. Антибиотикорезистентность определялась к следующим антимикробным препаратам: ампициллин, ампициллин/сульбактам, пиперациллин/тазобактам, цефалотин, цефуроксим, цефтазидим, цефотаксим, цефокситин, имипенем, меропенем, гентамицин, тобрамицин, ципрофлоксацин, норфлоксацин, триметоприм, нитрофурантоин, тетрациклин, колистин, тигециклин. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Антибиотикорезистентность *K. pneumoniae* (n=24)

Наименование антибиотика	Устойчивые, %	Умеренно устойчивые, %	Чувствительные, %
Ampicillin	91,7	0	8,3
Ampicillin/Sulbactam	29,2	0	70,8
Piperacillin/Tazobactam	37,5	4,2	58,3
Cephalothin	54,2	0	45,8
Cefuroxime	66,7	0	33,3
Ceftazidime	45,8	4,2	50,0
Cefotaxime	45,8	12,5	41,6
Cefoxitin	66,7	0	33,3
Imipenem	20,8	8,4	70,8
Meropenem	20,8	12,5	66,7
Gentamicin	20,8	0	79,2
Tobramycin	29,2	0	70,8
Ciprofloxacin	41,7	0	58,3
Norfloxacin	45,8	0	54,2
Trimethoprim	95,8	4,2	0
Nitrofurantoin	29,2	0	70,8
Tetracycline	12,5	8,3	79,2
Colistin	8,3	0	91,7
Tigecycline	8,3	12,5	79,2

При анализе антибиотикорезистентности клинических изолятов *K.pneumoniae*, выделенных из нижних дыхательных путей пациентов с инфекцией COVID-19 установлено, что наибольшая активность в отношении данного возбудителя отмечена у колистина, к которому были чувствительны 91,7% выделенных штаммов. К тетрациклину и тигециклину оказались чувствительны по 79,2% выделенных штаммов, резистентны были к тетрациклину 12,5% клинических изолятов, а к тигециклину 8,3% клинических изолятов *K.pneumoniae*.

Отмечалась высокая резистентность *K. pneumoniae* к большинству β-лактамов антибиотиков. Так, к ампициллину были резистентны 91,7% штаммов *K. pneumoniae*. К цефалоспорином резистентными оказались от 45,8% до 66,7% выделенных штаммов. К защищенным пенициллинам – ампициллин/сульбактаму и пиперациллин/тазобактаму были резистентны 29,2% и 37,5%, а чувствительны – 70,8% и 58,3% исследуемых штаммов соответственно. Достаточно высокую резистентность исследуемые культуры продемонстрировали к карбапенемам: имепенему и меропенему были резистентны по 20,8% выделенных штаммов, чувствительны – 70,8% и 66,7%, умеренно устойчивыми – 8,4% и 12,5% исследуемых культур соответственно. К аминогликозидам – гентамицину и тобрамицину *in vitro* оказались чувствительными 79,2% и 70,8%, а резистентными 20,8% и 29,2% клинических изолятов *K.pneumoniae* соответственно.

Высокая резистентность клинических изолятов *K. pneumoniae* отмечена к группе фторхинолонов. К ципрофлоксацину и норфлоксацину резистентны были от 41,7% и 45,8% исследуемых штаммов. К нитрофурантоину были чувствительны 70,8% клинических изолятов *K. pneumoniae*, однако данный антибиотик не используется в лечении пневмоний. К триметоприму чувствительных штаммов не было. Из всех исследуемых клинических изолятов *K. pneumoniae* 8,3% продемонстрировали панрезистентность.

Выводы. Клинические изоляты *K. pneumoniae*, выделенные из нижних дыхательных путей пациентов с вторичной бактериальной пневмонией, ассоциированной с инфекцией COVID-19, демонстрировали высокую резистентность к большинству тестируемых антимикробных препаратов. Выбор антибиотиков для этиотропной терапии данных пациентов должен базироваться на локальных данных антибиотикорезистентности, полученных в результате динамического микробиологического мониторинга.

Литература

1. Дятлов, И.А. К вопросу о применении экспресс-методов выявления антибиотикорезистентности в условиях эпидемии коронавирусной инфекции / И.А. Дятлов // Бактериология. – 2020. – Т. 5, № 2. – С. 5-7.
2. Рогачева Е.В., Краева Л.А. Оценка эффективности новых антибактериальных соединений в отношении *Klebsiella pneumoniae* как ведущего этиологического фактора при осложнённых формах коронавирусной инфекции / Проблемы медицинской микологии. 2021. Т. 23. № 2. С. 131.
3. Чеботарь, И.В. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном / И. В. Чеботарь [и др.] // Клиническая микробиология, антимикробная химиотерапия. – 2020. – Т. 22, № 1. – С. 4-19.

ВИДОВОЙ СПЕКТР ВОЗБУДИТЕЛЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19

Волосач О.С.¹, Черняк Л.К.²

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра инфекционных болезней

²УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница», Беларусь

Актуальность. Одним из осложнений новой коронавирусной инфекции является сепсис, который может быть вызван как грамположительными, так и грамотрицательными бактериями [3]. При этом более тяжелые формы заболевания связывают с грамотрицательными микроорганизмами, среди которых наиболее часто встречаются *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* [1]. Данные возбудители вызывают в 2 раза более высокую летальность, чем при грамположительном сепсисе [2]. Осложнение инфекции COVID-19 бактериальным сепсисом ведет не только к увеличению сроков пребывания в стационаре и, следовательно, повышению затрат на лечение, но и к повышению смертности, особенно среди больных, находящихся в критическом состоянии. Определение этиологии сепсиса весьма важно для обоснования выбора или смены режима антибиотикотерапии, оценки эффективности терапии у пациентов. Лечение сепсиса можно решающим образом улучшить при раннем начале адекватной терапии. Поэтому изучение структуры микроорганизмов, выделяемых при микробиологическом исследовании материалов, полученных от септических больных, является актуальным

Цель. Определить видовой спектр возбудителей, выделенных из крови пациентов с инфекцией COVID-19 стационаров г. Гродно на основании результатов регионального микробиологического мониторинга, проведенного с апреля 2020 года по август 2021 года.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования явились пациенты с инфекцией COVID-19, проходившие лечение в стационарах г. Гродно с апреля 2020 года по август 2021 г. Микробиологические исследования проводились на базе бактериологической лаборатории учреждения здравоохранения «Гродненская областная инфекционная больница» (центр коллективного пользования), куда поступала кровь для исследования на стерильность из 6 стационаров городского типа г. Гродно: УЗ «Гродненская областная клиническая больница медицинской реабилитации», УЗ «Городская клиническая больница № 2», УЗ «Городская клиническая больница № 3», УЗ «Городская клиническая больница № 4», УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница», УЗ «Больница скорой медицинской помощи», где проходили стационарное лечение пациенты с инфекцией COVID-19.

Забор гемокультуры и идентификация выделенных возбудителей проводились по микробиологическим методикам в соответствии с инструкцией

по применению МЗ РБ «Микробиологические методы исследования биологического материала». Для посева крови использовались флаконы с коммерческими средами для автоматических анализаторов (Bactec), с последующим высевом на плотные питательные среды. Культивация микроорганизмов проводилась на питательных средах российского производства. Верификацию видовой принадлежности выделенных микроорганизмов проводили на микробиологическом анализаторе Vitek 2 Compact (Biomerieux). Микробиологический мониторинг проводился с помощью аналитической компьютерной программы WHONET (США), рекомендованной ВОЗ.

Статистическая обработка полученных цифровых данных производилась с использованием программ Statistica 10.0, Excel 2010. В качестве уровня статистической значимости принято значение $p < 0,05$.

Результаты. Из крови пациентов с инфекцией COVID-19 стационаров г. Гродно в указанный период времени были изолированы 34 культуры микроорганизмов. Этиологическая структура возбудителей, выделенных из крови пациентов с инфекцией COVID-19 представлена в таблице 1.

Таблица 1. – Видовой спектр возбудителей, выделенных из крови пациентов с инфекцией COVID-19 (n=34)

Название возбудителя	Количество	
	абс.	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	26,5
<i>Staphylococcus hominis</i>	7	20,6
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	2,9
Всего стафилококков	17	50,0
<i>Enterococcus spp.</i>	1	2,9
Всего грам+ микроорганизмов	18	52,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	23,5
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3	8,8
<i>Escherichia coli</i>	2	5,9
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2	5,9
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	2,9
Всего грам- микроорганизмов	16	47,1

Из крови пациентов с инфекцией COVID-19 стационаров г. Гродно было получено 18 (52,9%) культур грамположительных микроорганизмов и 16 (47,1%) культур грамотрицательных микроорганизмов. Достоверных различий частоты выделения грамположительных и грамотрицательных

микроорганизмов из крови пациентов с инфекцией COVID-19 получено не было ($p > 0,05$).

Среди грамположительных микроорганизмов, выделенных из крови пациентов с инфекцией COVID-19, лидирующая роль принадлежала стафилококкам, которых было выделено суммарно 17 клинических изолятов, что составило 50,0% от всех выделенных из крови пациентов возбудителей. Среди стафилококков было изолировано 9 культур *Staphylococcus aureus*, что составило 26,5% от всех выделенных из крови культур. Удельный вес коагулазонегативных стафилококков суммарно составил 23,5% от всех выделенных из гемокультуры возбудителей. В единичном случае из крови пациентов с инфекцией COVID-19 был получен *Enterococcus spp.* (2,9%).

Среди представителей грамотрицательной флоры лидирующая роль принадлежала *Klebsiella pneumoniae*, которой было получено 8 клинических изолятов, что составило 23,5% от всех выделенных из гемокультуры возбудителей и достоверно превышало удельный вес других грамотрицательных микроорганизмов ($p < 0,05$). Так же из крови пациентов с инфекцией COVID-19 были выделены 3 культуры *Acinetobacter baumannii* (8,8% от всех выделенных возбудителей). Кроме того, из гемокультуры было изолировано по 2 культуры *Escherichia coli* и *Sphingomonas paucimobilis*, что составило по 5,9% от всех клинических изолятов, выделенных из гемокультуры. В единичном случае была идентифицирована *Stenotrophomonas maltophilia*, что составило 2,9% от всех возбудителей, выделенных из крови пациентов с инфекцией COVID-19.

Выводы. Видовой спектр возбудителей, выделенных из крови пациентов с инфекцией COVID-19 стационаров г. Гродно, был представлен как грамположительной, так и грамотрицательной флорой. Среди грамположительных возбудителей лидирующая роль принадлежала стафилококкам, причем удельный вес *S. aureus* составил 26,5% от всех полученных из гемокультуры клинических изолятов возбудителей. Выделение коагулазонегативных стафилококков из гемокультуры, требует проведения повторных исследований, так как обнаружение данных возбудителей может явиться следствием внешнего загрязнения при нарушении техники забора крови. Среди грамотрицательных возбудителей преобладала *K. pneumoniae* – 23,5% от всех возбудителей, выделенных из крови пациентов с инфекцией COVID-19.

Литература

1. Грувер, К.П. Актуальные аспекты сепсиса / К.П. Грувер, В.Б. Белобородов, Т.Н. Кузьменко // Антибиотики ихимиотерапия. – 2011. – № 3–4 (56). – С. 35–40.
2. Савина, В.А. Актуальные вопросы эпидемиологии сепсиса / В.А. Савина, Е.Н. Колосовская, В.Ф. Лебедев // Медицинский альманах. – 2014. – № 4 (34). – С. 20–22.
3. Чирский, В.С. Патологоанатомические характеристики при грамотрицательном и грамположительном сепсисе / В.С. Чирский, Е.А. Андреева, А.К. Юзвинкевич, И.В. Гайворонский // Вятский медицинский вестник. – 2020. – № 1. – С. 56–62.

ФЕРМЕНТЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И СЕКРЕТОРНЫЕ IGA С АБЗИМНОЙ АКТИВНОСТЬЮ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ПЕРИОДОНТИТОМ

Генералов И.И., Коротина О.Л., Генералова А.Г.

Витебский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра клинической микробиологии

Актуальность. Хронический периодонтит (ХП) поражает более 30% взрослого населения. Деструктивный процесс затрагивает все поддерживающие ткани зуба с разрушением коллагеновых волокон периодонтальных связок, резорбцией альвеолярной кости, атрофией десны и других тканей периодонта. Прогрессирование ХП является основной причиной вторичной адентии.

Установлено, что микробный фактор занимает ведущее место в патогенезе хронического периодонтита. Инфекционное воспаление при ХП обусловлено сложным сочетанием бактериальных патогенов. Считается, что основную роль здесь играет группа грамотрицательных облигатно-анаэробных микроорганизмов так называемого «красного» и «оранжевого» комплекса (по S. Socransky с соавт., 1998). В первую очередь к ним относят виды *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola*, а также многочисленных представителей превотелл, фузобактерий, актиномицетов и др. Последние исследования по секвенированию полного микробиома периодонтальных биотопов существенно расширили и уточнили уже известный перечень периодонтопатогенов [1].

Ответные иммуновоспалительные реакции на бактериальную инфекцию также нарушают целостность тканей периодонта. В этих реакциях участвуют нейтрофилы, макрофаги, их цитокины, гидролитические и редокс-ферменты, генерирующие свободные радикалы. Локализуясь в зубодесневом кармане, они усугубляют повреждение тканей. Сравнительно недавно установлена высокая ферментативная (абзимная) активность секреторных IgA слюны, роль которых (защитная либо патологическая) в системе местного иммунитета ротовой полости пока не определена.

В сравнении со здоровыми лицами активность всех указанных факторов при ХП существенно меняется. Это может быть использовано для подтверждения диагноза ХП или его обострения. В настоящее время повсеместно ведутся интенсивные исследования по выявлению объективных биомаркеров ХП [2], несмотря на наличие многочисленных клинических и инструментальных проб и индексов, позволяющих определить тяжесть и распространенность ХП.

В наших предварительных исследованиях было выявлено, что отдельные виды активности ферментов и абзимов ротовой жидкости могут рассматриваться как возможные лабораторные маркеры при диагностике ХП [3].

Цель. Целью нашего исследования стало определение свободной ДНК, а также оксидоредуктазной, протеолитической и нуклеазной ферментативной

активности ротовой жидкости и выделенных из нее абзимов класса IgA у пациентов с хроническим периодонтитом в сравнении с лицами без патологии периодонта.

Материалы и методы исследования. В качестве материала для исследования использовали пробы ротовой жидкости и выделенные из них иммуноглобулины класса А пациентов с хроническим маргинальным периодонтитом, находившихся на лечении в УЗ «Витебская областная стоматологическая поликлиника» (всего 92 человека) и контрольной группы лиц без патологии периодонта (31 человек).

Забор и обработку ротовой жидкости, выделение из нее иммуноглобулинов класса А, оценку различных видов ферментативной и абзимной активности, определение концентрации ДНК в ротовой жидкости проводили по методам, изложенным нами ранее [3].

Определяли следующие виды ферментативной активности: протеолитическую (БАПНА-амидазную, эластазную, активность катепсинов G, B и C), оксидоредуктазную (пероксидазную, каталазную), ДНКазную. Активность выражали в условных единицах, соответствующих изменениям оптической плотности.

При проведении статистической обработки полученных результатов применяли стандартные методы описательной статистики. Характер распределения изучаемых величин оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Так как в большинстве случаев распределение признаков отличалось от нормального, в представлении данных использовали показатели медианы, верхнего и нижнего квартилей. Для обнаружения различий между двумя выборками применяли критерий Вилкоксона-Манна-Уитни. ROC-анализ проводили в программе MedCalc.

Результаты. Было установлено, что ферментативная и абзимная активность у пациентов с ХП по ряду показателей существенно выше, чем в контрольной группе здоровых лиц.

В частности, пероксидазная активность ротовой жидкости пациентов значительно (почти на порядок) превышала показатели контрольной группы [0,466 (0,171:0,882) к 0,051 (0,030:0,239) Ед; n=84 и n=31], при этом отличия были высокозначимыми (p<0,001).

Сходным образом при сравнении величин пероксидазной абзимной активности IgA пациентов и здоровых лиц выявлено, что у пациентов данная активность также выше, чем у здоровых [0,476 (0,094:1,09) к 0,055 (0,016:0,114) Ед; n=83 и n=31, p<0,001].

Аналогичные результаты были продемонстрированы и для каталазной активности в ротовой жидкости [74,19 Ед (50,41:92,70) к 13,35 Ед (6,54:27,56); n=81 и n=30, p<0,001]. Однако достоверных различий уровней каталазных абзимных IgA между пациентами и здоровыми не определялось.

Значительного повышения трипсиноподобной (БАПНА-амидазной) активности РЖ установлено не было. Отмечаются более высокие уровни активности в группе пациентов в сравнении с контролем [0,245 Ед (0,162:0,335)

к 0,088 Ед (0,054:0,198); n=84 и n=29, p<0,001]. БАПНА-амидазная активность всех образцов IgA была минимальной.

Тем не менее, дальнейший анализ показал, что развитие ХП сопровождается выраженным ростом ферментативной активности эластазы. Гранулоцитарная эластазная активность ротовой жидкости у пациентов составила 0,451 Ед (0,18:0,91); n=78 в сравнении с минимальными уровнями в контроле [0,018 Ед (0:0,042); n=30], p<0,001.

Аналогичным образом, эластазная абзимная активность IgA пациентов была также выше, чем у здоровых [0,202 (0,078:0,53); n=78 к 0,071 (0,008:0,246); n=30, p=0,003].

Уровни катепсина С и G в ротовой жидкости не отличались в группе пациентов и группе контроля (p>0,05). Активность катепсина В ротовой жидкости пациентов была выше, чем у здоровых лиц [0,269 Ед (0,119:0,404) к 0,048 Ед (0,03:0,104); n=79 и n=30, p<0,001].

В свою очередь, активность IgA пациентов в отношении субстрата катепсина G у была достоверно ниже, чем в контроле [0,01 (0,004:0,034); n=78 к 0,042 (0,013:0,095); n=29, p=0,002].

Абзимная активность IgA в отношении субстратов цистеиновых протеиназ (катепсина В и С) была минимальной; обнаружены лишь единичные положительные пробы.

Более высокие уровни ДНКазной ферментативной активности в ротовой жидкости встречались несколько чаще у пациентов, чем у здоровых [5,0 Ед (3,0:5,0) к 4,0 Ед (1,0:4,5); n=82 и n=31, p<0,001]. ДНКазная абзимная активность IgA пациентов также была выше, чем у здоровых [1,0 Ед (0,5:2,0) к 0,5 Ед (0:0,75); n=83 и n=31, p=0,002].

С другой стороны, с развитием хронического периодонтита у пациентов резко нарастает содержание свободной ДНК в ротовой жидкости. Получены следующие данные – 1550,1 (96,0:4565,3) нг/мл (n=75) у пациентов и всего лишь 3,0 (0,11:18,2) нг/мл (n=29) у здоровых лиц.

С использованием метода ROC-анализа было проведена оценка изученных лабораторных показателей как потенциальных диагностических маркеров хронического периодонтита.

При их сравнении оказалось, что максимальной диагностической значимостью при установленной точке отсечения обладает тест определения эластазы ротовой жидкости (специфичность – 96,7%; чувствительность – 85%, площадь под кривой AUC – 0,933; индекс Юдена – 0,82). Близкими параметрами характеризуются тесты определения каталазы (специфичность – 100%; чувствительность – 74,7%; индекс Юдена – 0,75) и определения концентрации ДНК в ротовой жидкости (специфичность – 93%; чувствительность – 76%; индекс Юдена – 0,69).

Полученные результаты подтверждают значительные изменения ферментативной и абзимной активности sIgA ротовой жидкости у пациентов с хроническим периодонтитом. Эти изменения отражают процессы воспаления и цитолиза, характерные для данного заболевания. Наблюдается выраженное

увеличение оксидоредуктазной и эластазной активности. Более чем на 2 порядка возрастает при ХП средний уровень свободной ДНК ротовой жидкости. Данные показатели могут в дальнейшем применяться в качестве лабораторных маркеров диагностики хронического периодонтита.

Выводы. 1. Установлен ряд лабораторных показателей ротовой жидкости, характерных для хронического периодонтита. К ним относятся свободная ДНК ротовой жидкости, а также оксидоредуктазная (пероксидазная, каталазная) и эластазная ферментативная и абзимная активность.

2. Максимальной диагностической эффективностью при ХП обладает тест определения нейтрофильной эластазы ротовой жидкости (специфичность теста – 96,7%; чувствительность – 85%).

Литература

1. The prevalence of novel periodontal pathogens and bacterial complexes in Stage II periodontitis based on 16S rRNA next generation sequencing / S. Abu Fanas [et al.] // J. Appl. Oral Sci. – 2021. – Vol.29. – P. 1-16.

2. Diagnostic accuracy of oral fluids biomarker profile to determine the current and future status of periodontal and peri-implant diseases / S.S. Gul [et al.] // Diagnostics – 2020. – Vol. 10. – P.1-28.

3. Диагностическое значение определения ферментов ротовой жидкости и каталитической активности IgA у пациентов с хроническим периодонтитом / О.Л. Коротина [и др.] // Стоматолог. – 2015. – № 3. – С.47–54.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХЛОРИДА КАЛЬЦИЯ С ЦЕЛЬЮ УДАЛЕНИЯ ФИБРИНОГЕНА ИЗ ЦИТРАТНОЙ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ ПЛАЗМЫ К АФФИННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Генералов С.И., Жерулик С.В., Павлов Ю.А., Сушкова С.А.

Витебский государственный медицинский университет, Беларусь

Кафедра клинической микробиологии

Кафедра онкологии с курсом ФПК и ПК

Кафедра клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК

Актуальность. При выполнении широкого спектра иммунологических исследований возникает необходимость одновременного изучения как клеточных, так и гуморальных факторов системы иммунитета пациента.

Традиционно забор крови для выделения гранулоцитов и мононуклеаров проводится с 3,2% раствором цитрата натрия – широко используемым антикоагулянтом. В процессе изоляции лейкоцитов образуется цитратная плазма, которую далее можно использовать для выделения и оценки гуморальных факторов системы иммунитета, например, с помощью аффинной хроматографии (АХ) или других видов специфической сорбции. Однако содержащийся в плазме крови фибриноген отрицательно влияет на срок службы матриц, применяемых в хроматографии.

В подобных случаях возможно проводить забор второй порции крови в обычную стерильную стеклянную пробирку с последующим получением

сыворотки для АХ. Однако удлинение сроков парентеральной процедуры увеличивает риск инфицирования и, кроме того, является неблагоприятным психологическим фактором для пациента. С другой стороны, необходимость двукратного забора крови на 2 различных вида исследований затрудняет работу медперсонала и работников лаборатории.

Цель. Предложить метод обработки цитратной плазмы пациента для удаления фибриногена.

Материалы и методы исследования. В качестве примера работы с использованием АХ мы проводили выделение иммуноглобулинов класса А.

Материалом служили 4 образца венозной крови здоровых доноров. Два образца крови забирали в цитратные вакуумные пробирки с последующим центрифугированием на двойном градиенте плотности Histopaque-1077 и Histopaque-1119 производства Sigma согласно стандартным методам выделения гранулоцитов и мононуклеаров. Верхний слой плазмы собирали в стерильную стеклянную пробирку. Затем плазму обрабатывали с помощью раствора хлорида кальция по описанной ниже методике.

Другие 2 образца крови забирали также в стерильные стеклянные пробирки без добавления антикоагулянтов, с последующим отделением контрольной сыворотки путем центрифугирования со скоростью 1500 об/мин в течение десяти минут. Как обработанную плазму, так и сыворотку в дальнейшем подвергали двойному преципитированию на растворах $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ согласно Г. Фримелю [1]. Получившиеся растворы пропускали через колонки с агарозой, конъюгированной с антителами против тяжелой цепи общих IgA человека. После этого колонки последовательно промывали 20 мл раствора Тритона X-305, затем 30 мл 0,15М PBS, и 10 мл 0,15М NaCl. Связавшиеся IgA элюировали с помощью глицин-HCl буфера pH 2,8 до полного исчезновения белка в элюенте. Иммунохимическую чистоту антител подтверждали методом иммунодиффузии по Оухтерлони.

Итоговые концентрации иммуноглобулинов определяли с помощью спектрофотометрии.

Результаты. Была предложена следующая методика связывания фибриногена.

В основе механизма действия цитрата натрия лежит способность связывать ионы кальция, тем самым подавляя общий путь системы свертывания. Данный процесс возможно обратить вспять, добавив в плазму раствор хлорида кальция с конечной концентрацией в 0,14% что превышает связывающую способность цитрата натрия. Соответственно, концентрация свободных ионов кальция в плазме становится равна физиологической, что активирует процессы гемостаза.

После добавления хлорида кальция, образец плазмы инкубировали в термостате при 36°C в течение 30 минут до выпадения плотного сгустка фибрина, который затем удаляли.

После выделения IgA из опытных и контрольных проб и последующих измерений оказалось, что среднее содержание IgA, полученных из

обработанной плазмы, составило 0,134 мг/мл. Среднее содержание IgA, выделенных из контрольной сыворотки, составило 0,136 мг/мл.

Выводы. Предлагаемый метод обработки цитратной плазмы пациента хлоридом кальция приводит к удалению фибриногена/фибрина из препарата, с получением образца сыворотки для дальнейших иммунохимических исследований.

Данная методика позволяет ограничиться однократным забором крови у пациента.

Литература

1. Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля: пер.с нем. – М., 1987. Работа выполнена при поддержке БРФФИ, грант № M20M-046.

ЛИДИРУЮЩИЕ ВАКЦИНЫ ОТ SARS-COV-2

Горецкая М.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга

Актуальность. К настоящему времени известно семь видов коронавирусов, поражающих человека. Четыре из них *229E (HCoV-229E)*, *OC43 (HCoV-OC43)*, *NL63 (HCoV-NL63)* и *HKU1 (HCoV-HKU1)* вызывают относительно легкие респираторные инфекции, заканчивающиеся самопроизвольным выздоровлением [3]. Три других вида – коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома (*SARS-CoV*) [1, 2], коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (*MERS-CoV*) и коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2 (*SARS-CoV-2*) – являются высокопатогенными и могут привести к тяжелым респираторным заболеваниям и летальному исходу у инфицированных пациентов [3].

С декабря 2019 года по настоящее время (17 сентября 2021) *SARS-CoV-2* стал причиной более 228,1 миллионов случаев заболевания и более 4,7 миллиона смертей во всем мире [5] Резкое увеличение распространения вируса, а также повышение уровня смертности от *SARS-CoV-2* во всем мире привело многих исследователей к поиску потенциальных вакцин для защиты от инфекции. Предыдущие знания о вакцинах против *SARS* и *MERS* позволили исследователям начать разработку вакцины *SARS-CoV-2* всего через несколько недель после вспышки [4].

Цель. Выявить лидирующие вакцины от *SARS-COV-2*.

По состоянию на 20 августа 2021 года 112 вакцин-кандидатов находились на стадии клинических исследований, и 184 – на стадии доклинических исследований [6].

19 августа 2021 получили одобрение ВОЗ для применения следующие вакцины *Pfizer/BioNTech* (мРНК), *Moderna* (мРНК), *AstraZeneca* (векторная вакцина аденовируса шимпанзе), *Johnson&Johnson* (векторная вакцина аденовируса), *Sinopharm* и *Sinovac* (инактивированные вакцины) [7].

Немецкая биотехнологическая компания *BioNTech* при сотрудничестве с американской компанией *Pfizer* (США) разработала мРНК-вакцину (*BNT162b2*), которая состоит из модифицированной нуклеозидами мРНК, кодирующей мутантную форму белка-шипа *SARS-CoV-2*, инкапсулированной в липидные наночастицы. Вакцина используется в США, Канаде, в странах Европейского союза, Великобритании, Израиле, Австралии, Саудовской Аравии, Швейцарии, Норвегии, Исландии, Сербии и др.

Эффективность вакцины составляет 95%. В компании *Pfizer* заявили, что эффективность от штамма «Дельта» составляет 90-93% (штамм «Дельта» коронавируса обнаружили в Индии в октябре 2020 года, на данный момент он является доминирующим штаммом *SARS-CoV-2* во всём мире). Через месяц после получения обеих доз эффективность вакцины остаётся на высоком уровне и составляет 93% (97% против других штаммов). Через четыре и более месяцев после второй прививки эффективность снижается с 93 до 53%. Соответствующие цифры приведены в докладе, подготовленном *Pfizer* для американского надзорного ведомства *FDA*, которое должно рассмотреть целесообразность применения третьей, бустерной дозы вакцины для укрепления защиты от коронавируса. Однако по данным «Медицинского журнала Новой Англии», эффективность вакцины против штамма «Дельта» составляет всего 88% (при введении двух доз). Одна доза дает защиту всего на 30%.

Компания *Moderna* (США) разработала вакцину мРНК-1273, которая состоит из модифицированной нуклеозидами мРНК (мРНК-1273 кодирует спайковый белок, стабилизированный в префузионной форме). В 2021 году эксперты Всемирного конгресса вакцин признали препарат от *Moderna* лучшей в мире вакциной от *SARS-CoV-2*, а также *Moderna* оказалась победителем в категории «Лучшая новая технология/платформа вакцины». Следует отметить, что *Moderna* самая дорогая из существующих сейчас вакцин против *SARS-CoV-2*. Вакцина используется в США, Великобритании, в странах Европейского союза, Норвегии, Исландии, Гренландии и на Фарерских островах.

Эффективность вакцины – 94,1%. Что касается штамма «Дельта», по данным канадских ученых, защита составляет 72%, а по данным отчета *medRxiv* – 76%.

Англо-шведская вакцина *AstraZeneca AZD1222* «Оксфордская вакцина» – платформа аденовирусных векторов шимпанзе для доставки антигена, состоящего из белка S, объединенного с лидерной последовательностью тканевого активатора плазминогена. В марте 2021 года были опубликованы данные третьей фазы испытаний вакцины. По этим данным, препарат на 79% эффективен от заболевания коронавирусом с появлением симптомов и на 100% – от тяжелой формы *SARS-CoV-2* с последующей госпитализацией [8]. Вакцина *AstraZeneca* используется в Америке, Европе, Северной Африке, Юго-Восточной Азии и Океании.

Эффективность вакцины в среднем 70% (62-90%).

В тоже время эффективность от штамма «Дельта» варьирует по разным

источникам от 50% до 67%.

Компания *Johnson & Johnson* (США) разработала векторную вакцину *Janssen*. Вакцина содержит вектор аденовируса человека 26-го серотипа и полноразмерный белок S, стабилизированный при помощи введения мутаций. Кроме того, её производство осуществляется в клеточной линии *PER.C6* (это эмбриональные клетки сетчатки человека).

Эффективность вакцины составляет 66-72%. Также препарат с вероятностью 85% защищает от тяжелой формы *SARS-CoV-2*. В марте 2021 г. в ВОЗ заявили, что препарат *Johnson & Johnson* эффективен против мутировавших штаммов коронавируса, в частности, «британского» («Альфа») и «южноафриканского» («Бета»). От штамма «Дельта» эффективность составила 71% от тяжелой формы *SARS-CoV-2* до критической [9]. Однако по полученным данным 13 сентября 2021 года согласно отчету Французского национального агентства по безопасности лекарственных средств (*ANSM*) Лиона и Гренобля однократная доза препарата *Janssen* обеспечивает недостаточную защиту от штамма «Дельта» [10]. По другим источникам однократная доза препарата *Janssen* нейтрализует вирус в течение 29 дней, и защита от штамма «Дельта» продлится до 8 месяцев. У вакцины *J&J* есть еще преимущества, она представляет собой однократную дозу и имеет более низкую стоимость по сравнению с аналогами.

Китайская компания *Sinopharm* (компания *China National Biotec Group (CNBG)*, которая является подразделением *Sinopharm*) при сотрудничестве с Пекинским институтом биологических продуктов, создали инактивированную вакцину на базе линии *HB02* (эта вакцина получила название *BBIBP-CorV*). Сначала вирус выращивают в клетках в биореакторах, затем инактивируют химическим способом, после смешивают с небольшим количеством адьюванта [11]. Вакцина используется в Китае, ОАЭ, Бахрейне, Беларуси, Иордании, Перу, Аргентине.

По оценкам китайской стороны, вакцина показала эффективность в 79,34%

Sinovac – химически инактивированная цельновирусная вакцина против COVID-19. Вакцину разработала китайская биофармацевтическая компания *Sinovac Biotech*. Препарат *CoronaVac* стал второй произведенной в КНР вакциной, которую разрешили для применения в Китае (первая вакцина китайской компании *Sinopharm*). Вакциной прививают население Китая, в Бахрейне, Ираке, Иордании, ОАЭ, Пакистане, на Сейшеллах, в Египте, Сербии, Украине и др.

Эффективность вакцины оценивается на уровне 70%. В Турции была заявлена эффективность 83,5%, в Бразилии 78%, в Индонезии – 65,3%. По отношению к индийскому штамму «Дельта» эффективность меньше. По словам представителя компании *Sinovac Biotech* Лю Пейчена, предварительные результаты, основанные на образцах крови тех, кто был вакцинирован этим препаратом, показали трехкратное снижение нейтрализующего эффекта против «Дельты». По данным ВОЗ, эффективность этой вакцины по отношению к

новым штаммам коронавируса составляет 49,6–50,7%.

В Беларуси на сегодняшний день привились от коронавирусной инфекции 1455251 человек. Это 15,41%. В нашей стране можно привиться китайской вакциной *Sinopharm* и российской вакциной «Спутник V».

По проценту населения, прошедшего вакцинацию от коронавируса (COVID-19) по ведущим странам мира на сегодняшний день первое место занимает ОАЭ – более 90%, на втором месте Португалия – 87%, на третьем месте Катар – 84%.

Подытоживая, следует отметить, что в Северной Америке в основном прививают мРНК-вакцинами от *Moderna* и *Pfizer/BioNTech*. Тогда как в странах Европейского союза используют преимущественно векторные вакцины *AstraZeneca* и *Janssen* от *Johnson & Johnson*, хотя при желании можно также привиться мРНК от *Pfizer/BioNTech* и *Moderna*. В Израиле доминирует *Pfizer/BioNTech*. А в Китае используют собственные разработки: инактивированную *CoronaVac* и векторную *Convidecia*. В России также в основном используют собственные разработки. Это зарегистрированные три вакцины: векторная «Спутник V» (НИЦ им. Гамалеи), инактивированная «КовиВак» (НИЦ им. М.П. Чумакова) и «ЭпиВакКорона» (Научный центр «Вектор» Роспотребнадзора). Из них доминирует «Спутник V» – двухкомпонентная вакцина, в которой использованы серотипы аденовируса 5 и 26. В ней не используется фрагмент тканевого активатора плазминогена, а антигенная вставка представляет собой немодифицированный полноразмерный S-белок. Для производства вакцины «Спутник V» используется клеточная линия *HEK293*. В составе аденовирусных векторов содержится в десятки раз меньшее количество нуклеиновой кислоты по сравнению с вакциной *Pfizer* и *Moderna* (1-2 мкг в Спутнике V против 50 и 100 мкг в вакцинах *Moderna* и *Pfizer*, соответственно). Помимо России вакцина используется в Беларуси, Венгрии, Казахстане, Египте, Сербии, Азербайджане, Албании, Аргентине, Алжире, Гвинее, Индии, Иордании, Ираке, Иране, Объединенных Арабских Эмиратах, Омане, Тунисе, Туркмении, Узбекистане, Филиппинах, Черногории, Шри-Ланке и еще в ряде стран. Эффективность вакцины составляет 95%. Против штамма «Дельта» – 83%.

Выводы. Лидирующие позиции занимают вакцины от *SARS-CoV-2* *Pfizer/BioNTech* и *Moderna*, за ними следуют вакцины *AstraZeneca* и *Janssen*. Необходимы дополнительные исследования и клинические испытания в будущем, чтобы подтвердить безопасность и эффективность вакцин против *SARS-CoV-2*. В идеале вакцинация должна вызывать долговременный иммунитет, но ежегодная вакцинация возможна и на основе опыта с вакциной против гриппа. Обширные исследования по изучению корреляции иммунной защиты и долгосрочной иммунной памяти у инфицированных людей могут проложить путь к разработке профилактических и терапевтических мер для будущих исследований вакцины *SARS-CoV-2*, а также будущих вспышек подобных коронавирусов. Следует учитывать, что разработка эффективных вакцин может занять несколько месяцев и даже лет.

Литература

1. Горецкая, М.В. Коронавирус и возрастные особенности иммунной системы человека / М.В. Горецкая // Актуальные вопросы микробиологии, иммунологии и

инфектологии: сборник материалов межвузовской научно-практической конференции, 30 октября 2020 г. – Гродно, 2020. – С. 29 – 32.

2. Жмакин, А.И. Микробиология / А.И. Жмакин, М.В. Горецкая. – Гродно: ГрГМУ, 2019. – 436 с.

3. Разработка вакцин для профилактики коронавирусной инфекции: от SARS и MERS до COVID-19 / Й. Д. Ли, В. Ю. Чи, Ц. Х. Су [и др.] // *Juvenis Scientia*. – 2020. – Т. 6. – № 6. – С. 41-80.

4. Soleimanpour, S. COVID-19 vaccine: where are we now and where should we go? / S. Soleimanpour, A. Yaghoubi // *Expert Rev Vaccines*. – 2021. – 20 (1). – P. 23-44.

5. <https://gogov.ru/covid-19/world>

6. <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>

7. https://extranet.who.int/pqweb/sites/default/files/documents/Status_COVID_VAX_19August2021.pdf

8. https://ru.wikipedia.org/wiki/AstraZeneca_COVID-19

9. https://ru.abcdef.wiki/wiki/Janssen_COVID-19_vaccine

10. <https://noi.md/ru/zdorovie/uchenye-vakcina-janssen-ne-jeffektivna-protiv-shtamma-delta?prev=1+>

11. <https://ru.sputnik.kz/spravka/20210428/16909264/vaktsina-sinopharm.html>

СТРАТЕГИИ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ВАКЦИН ОТ SARS-COV-2

Горецкая М.В., Шейбак В.М.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга

Актуальность. По мере того, как знания о патогенезе коронавируса *SARS-CoV-2* (*Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2*) и взаимодействиях с иммунной системой продолжают развиваться, различные лекарственные препараты-кандидаты изучаются и проходят клинические испытания. Потенциальные вакцины и терапевтические средства против *SARS-CoV-2* включают моноклональные антитела, противовирусные и антигенные белки, пептиды, генно-инженерные вирусы и др.

Стратегии разработки противовирусных вакцин можно разделить на три основные группы. К вакцинам первого поколения относятся аттенуированные (живые) и инактивированные вакцины. Вакцины второго поколения содержат белковые субъединицы и векторы. Вакцины третьего поколения созданы на основе нуклеиновых кислот и наноматериалов [3].

Цель. Систематизировать стратегии разработки противовирусной вакцины против SARS-COV-2.

Вакцины первого поколения – живые аттенуированные вакцины привлекают внимание из-за их способности вызывать высокий иммуногенный ответ, который возникает из-за присутствия природного антигенного материала. Несколько аттенуированных вирусных вакцин от *SARS-CoV-2* (разработанные *Indian Immunologicals Ltd* и университетом Гриффита, университетом Мехмет Али Айдынлар и *Meissa Vaccines*), в том числе вакцина,

основанная на платформе RSV (респираторно-синцитиального вируса), проходят доклинические исследования [2]. Вакцина *COVI-VAC*, разработанная *Codagenix Inc.*, вступает в фазы клинических испытаний в Великобритании [1]. Запланированы испытания для изучения защитного эффекта вакцинации БЦЖ от SARS-CoV-2. 20 апреля 2020 года началось тестирование этого кандидата на IV этапе с участием 1800 человек. В исследование принимают участие представители из Гарвардской школы общественного здравоохранения, Онкологического центра в Хьюстоне, Медицинского центра *Cedars Sinai* в Лос-Анджелесе и др. Первичные результаты этого исследования ожидаются в ноябре 2021 года [3]. Основная проблема живой аттенуированной вакцины – риск мутации, которая может вызвать повышенную вирулентность.

Инактивированные вакцины производятся *in vitro* путем инокуляции клеток млекопитающих, обычно клеток *Vero*, сертифицированных ВОЗ для производства вакцины, с последующей химической инактивацией β-пропиолактоном. В настоящее время 15 инактивированных вакцин проходят оценку на различных этапах клинических испытаний, среди них вакцина *BBIBP-CorV* (*Sinopharm*, произведенная в Пекинском институте биологических продуктов), *CoronaVac*, разработанная китайской биофармацевтической компанией *Sinovac*, *WIBP* (вакцина *Sinopharm*, произведенная в Уханьском институте биологических продуктов) и индийская вакцина *Covaxin* прошли фазу III клинических испытаний. [1]. Инактивированные вирусы неспособны к репликации из-за разрушенной РНК и более безопасны, чем аттенуированные вирусы, при этом они экспрессируют вирусные эпитопы, которые могут вызывать ответы антител. Однако неспособность к репликации снижает иммуногенность инактивированных вирусов и требует многократных инъекций вместе с адьювантами для длительного иммунитета [2]. *Sinovac* и *Sinopharm* получили официальное одобрение ВОЗ на применение среди населения.

Вакцины второго поколения (белковые субъединичные и векторные вакцины). При разработке субъединичной вакцины от коронавируса использовались различные виды белков в полной или сегментированной формах, включая рецептор-связывающий домен, мембранный белок, нуклеокапсидный белок, спайковый белок или белок оболочки. Некоторые из этих субъединичных вакцин включают рекомбинантное слияние белковых остатков (318–510) из рецептор-связывающего домена со способностью индуцировать нейтрализующие ответы антител [3].

Белковые субъединицы обладают ограниченной иммуногенностью и требуют адьювантов для выработки нейтрализующих антител. Независимо от того, нацелен ли иммунный ответ на полноразмерный S-белок или его субъединицы, усиливается гуморальный и клеточный иммунитет, включая образование нейтрализующих антител. Кроме того, белок N также считается многообещающим вакцинным материалом, поскольку он высоко иммуногенен и в большом количестве экспрессируется в SARS-CoV-2. Т-клеточный ответ против белков субъединиц S, M и N оказался наиболее доминирующим и продолжительным при SARS-CoV-2, и их субъединичные вакцины широко

исследуются в клинических испытаниях [2] как например, субъединичная вакцина *Vaxart*, вакцина *COVID-19 S-Trimer (SCB-2019)*, рекомбинантная моновалентная вакцина *COVAX19* с адьювантом *Advax-SM*, вакцина *KBP-COVID-19* (окончательный результат по исследованию получают в декабре 2021 года), пептидная вакцина *Ii-Key* – пептид из четырех аминокислот, который синтетически связан со специфическими эпитопами целевого антигена [3].

Вакцины второго поколения на основе векторов с потенциалом индукции иммунного ответа. Существует несколько вирусных векторов, используемых в качестве средства доставки, включая модифицированный вирус осповакцины анкара, аденовирус, ретровирусный вектор, лентивирусный вектор и сендаивирус [3]. Реплицирующиеся векторы обычно получают из аттенуированных вирусов или штаммов вирусов, разработанных для вакцинации, и переносят ген, экспрессирующий вирусный белок, обычно вирусный спайковый белок [1]. *Sputnik V (Gam-COVID-Vac)*, разработанный Исследовательским институтом Гамалея, основан на двух рекомбинантных аденовирусных векторах *rAd5* и *rAd26*, содержащие ген белка S SARS-CoV-2 [1]. *Janssen Pharmaceutica* производит вакцину на основе рекомбинантного аденовируса (*Ad26*). Нереплицирующейся векторной вакциной в клинических испытаниях фазы III, спонсируемой Оксфордским университетом и *AstraZeneca*, является вакцина *ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222)* на основе аденовирусного вектора с дефицитом репликации шимпанзе. Ген шипа SARS-CoV-2 был вставлен в локус *E1* генома аденовируса *ChAdOx1*. Использование аденовируса животных может снизить иммунитет к ранее существовавшему вектору, наблюдаемый при использовании вирусного вектора человека [3].

Вакцины третьего поколения на основе нуклеиновых кислот и наноматериалов. Вакцины на основе нуклеиновых кислот рассматриваются как клонированные антигенные белковые материалы, имитирующие естественную инфекцию. Эта вакцина была более безопасной альтернативой инактивированным и живым аттенуированным вакцинам. Предыдущие исследования вакцин против *SARS* и *MERS* показали, что вакцины на основе нуклеиновых кислот содержат плазмиды, кодирующие ген *S* и *N* этих двух вирусов, которые могут вызывать сильные иммунные ответы в экспериментальных моделях, включая увеличение продукции ИЛ-2, ИФН, цитотоксического Т-лимфоциты, CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеточные ответы [3]. Вакцины на основе мРНК являются многообещающей альтернативой обычным белковым или цельновирусным вакцинам, благодаря их безопасности, высокой эффективности для создания иммунного ответа, а также быстрому и дешевому производству [2]. В настоящее время разработаны 33 мРНК-вакцины, в том числе 26 в доклинической фазе, 2 в фазах I и I / II, 1 в фазе II и 2 в фазе III, а именно *BNT162b2 (BioNTech SE и Pfizer)* и мРНК-1273 (*Moderna*) [1].

мРНК была оптимизирована для повышения ее стабильности и процессивности путем включения 1-метилпсевдоуридина вместо уридина и инкапсуляции в липидные наночастицы для снижения ее иммуногенности *BNT162b1* содержит мРНК, кодирующую рецептор-связывающий домен белка

шипа, слитый с полученным из фибритина T4 доменом тримеризации «фолдона» для повышения его иммуногенности, в то время как *BNT162b2* содержит мРНК, кодирующую полноразмерный белок шипа. Вакцина *BNT162b2* продемонстрировала те же средние геометрические титры нейтрализации *SARS-CoV-2*, что и *BNT162b1*, но выявила гораздо меньше побочных эффектов, особенно у пожилых людей 65-85 лет [1]. мРНК-1273 – это новая инкапсулированная липидными наночастицами мРНК-вакцина, которая кодирует полноразмерный стабилизированный до слияния S-белок *SARS-CoV-2*. Данные показали, что мРНК-1273 индуцировала как мощные нейтрализующие антитела, так и ответы CD8 Т-лимфоцитов [3].

ДНК-вакцины легко производятся в больших количествах, обычно они состоят из плазмидного вектора, кодирующего целевую молекулу вакцины, и способны стимулировать долгосрочный гуморальный и клеточный иммунитет. ДНК также стабильна и не требует хранения в холодильнике, в отличие от обычных белковых/пептидных или цельновирусных вакцин. Учитывая повсеместное присутствие ферментов РНКазы и структурные различия, период полужизни ДНК больше по сравнению с мРНК, но ДНК по-прежнему необходимо проникать в ядро для транскрипции, что может привести к интеграции и мутации в геноме хозяина. Плазмидные ДНК-вакцины не вызывают соответствующего иммунного ответа, что требует многократных вакцинаций или использования адъюванта, который способствует усилению адаптивного иммунного ответа [2]. Белок S используется в качестве антигена всех ДНК-вакцин, которые в настоящее время проходят клинические испытания. Согласно ВОЗ такие вакцины разрабатываются американской компанией *Inovio*, компанией *Zyudus Cadila*, находящейся в Индии, компаниями в Италии *Takis*, *Evvivax* и *Applied DNA Sciences*, в Японии университетом Осаки. В настоящее время разработаны 22 ДНК-вакцины; 5 оцениваются или будут оцениваться в фазе испытаний I / II и 2 в фазе I [1].

Производство вакцин на основе наночастиц во многом зависит от выбранных материалов (полимер, белок, липиды и клеточные везикулы) и полезной нагрузки (пептид, белок, РНК, ДНК и весь вирус) [Chung, 2021]. Состав вакцины с наночастицами имеет преимущество перед введением только молекулярных вакцин, поскольку полезная нагрузка защищена от незрелой деградаци и непреднамеренных мишеней, таких как макрофаги [2], кроме того, для лиофилизированных наночастиц не требуется хранение в холодильнике. Компания *Novavax* разработала рекомбинантную вакцину-кандидат в виде наночастиц против *SARS-CoV-2* под названием *NVX-CoV2373*, которая генерирует антигены, полученные из S белка шипа коронавируса. Эта вакцина с префузионным белком используется с адъювантом *Matrix-M*, для усиления иммунных ответов и индукции высоких уровней нейтрализующих ответов антител [3].

Выводы. Таким образом, эффективные и безопасные вакцины против коронавируса должны генерировать желаемый гуморальный и клеточный иммунитет против *SARS-CoV-2*, одновременно сводя к минимуму

неблагоприятные побочные эффекты, а также обеспечивая быстрое развитие и внедрение, особенно в отношении ожидаемых вирусных мутаций.

Литература

1. Bakhiet, M. SARS-CoV-2: Targeted managements and vaccine development // M. Bakhiet, S. Taurin//Cytokine Growth Factor Rev. – 2021. – V. 58. – P. 16–29.
2. Chung, J.Y. COVID-19 vaccines: The status and perspectives in delivery points of view // J.Y. Chung, M.N. Thone, Y.J. Kwon //Adv Drug Deliv Rev – 2021. – V. 170. – P. 1-25.
3. Soleimanpour, S. COVID-19 vaccine: where are we now and where should we go? / S. Soleimanpour, A. Yaghoubi //Expert Rev Vaccines. – 2021. – 20 (1). – P. 23-44.

АНТИТЕЛА ПРОТИВ *SARS-COV-2*

Горецкая М.В., Шейбак В.М.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им.С.И.Гельберга

Актуальность. Опосредованный антителами гуморальный иммунитет имеет решающее значение для предотвращения повторных вирусных инфекций, а нейтрализующие антитела специфичны и эффективны для нацеливания на вирус. Этот классический подход адаптивной профилактики применяется ко многим инфекционным заболеваниям, включая *SARS-CoV*, *MERS-CoV* и инфекции *H1N1* [4]. В-клеточный иммунный ответ у пациентов с *SARS-CoV-2* возникает через неделю после первого симптома. Сначала, как правило, вырабатываются антитела против белка *N* нуклеокапсида *SARS-CoV*. В течение 4-8 дней после первых симптомов появляются антитела против белка *S*. Синтез нейтрализующих антител к белку *S* начинается на второй-третьей неделе [5].

Цель. Оценить эффективность антител против *SARS-CoV-2*.

Белок *S SARS-CoV-2* является основным индуктором нейтрализующих антител. Моноклональные антитела против белка *S* бамланивимаб, казиривимаб и имдевимаб были одобрены *FDA* еще в ноябре 2020 года. В тоже время продолжается поиск новых моноклональных антител против белка *S*. Среди них такие как *80R*, *CR3014*, *CR3022* и *m396*, находящиеся в стадии разработки. *CR3022* в настоящее время тестируется на сродство с рецептор-связывающим доменом *RBD* белка *S SARS-CoV-2* и показали нейтрализацию с помощью комбинированной терапии с *CR3014*, а *80R* и *m396* также показали мощную перекрестно-реактивную нейтрализацию при *SARS-CoV*. Четыре исходных человеческих моноклональных антитела (*B5*, *B38*, *H2* и *H4*) от выздоравливающего пациента показали связывание с *RBD SARS-CoV-2*, что привело к высокой нейтрализации вируса [4].

Пассивная иммунотерапия с использованием плазмы выздоравливающих пациентов считается многообещающим вариантом лечения инфекций *SARS-CoV-2*. ВОЗ и *FDA* разрешили плазменную терапию для тяжелых состояний в случае неэффективности препаратов. В настоящее время проводятся

клинические испытания для проверки уровня эффективности гипериммунной плазмы. Антитела в сыворотке крови пациентов, инфицированных *SARS-CoV*, эффективно нейтрализуют *SARS-CoV-2 in vitro*. При введении плазмы 5000 госпитализированным пациентам с *SARS-CoV-2* отметили ее безопасность [3]. Однако лечение плазмой ограничено, так как наблюдались побочные эффекты, включая умеренную лихорадку и аллергические реакции [4].

LY-CoV555 (бамланивимаб), нейтрализующие моноклональные антитела *IgG1*, которые с высокой аффинностью связываются с белком шипа *SARS-CoV-2*, были выделены у ряда первых пациентов в Северной Америке. В клиническом исследовании фазы II пациенты получали однократную дозу *LY-CoV555* в дозе 700, 2800 или 7000 мг или плацебо. Только однократная внутривенная инфузия *LY-CoV555* (2800 мг) ускоряла естественное снижение вирусной нагрузки [3].

AZD7442 представляет собой комбинацию двух антител длительного действия, полученных от выздоравливающих пациентов после инфекции *SARS-CoV-2*. Антитела (*COV2-2196* и *COV2-2130*), выделенные медицинским центром университета Вандербильта, распознали неперекрывающиеся участки вирусного шипового белка и, как было показано, синергетически нейтрализовали инфекцию *SARS-CoV-2* в эксперименте на мышах. Эти антитела лицензированы *AstraZeneca* еще в июне 2020 года и модифицированы для увеличения их периода полужизни на 6-12 месяцев и уменьшения связывания с рецептором *Fc*. *AZD7442* вступили в фазу I клинических испытаний в августе 2020 года. *AstraZeneca* начала два клинических испытания фазы III в ноябре 2020 года: *Storm chaser* (NCT04625972, 1125 участников) и *Provent* (NCT04625725, 5000 участников). Испытание *Provent* оценивает безопасность и эффективность моноклональных антител (профилактика инфекции *SARS-CoV-2*) на срок до 12 месяцев после однократной инъекции, в то время как в исследовании *Storm Chaser* оценивается постконтактная профилактика и превентивное лечение после однократной инъекции. США обеспечило 100 000 доз *AZD7442*.

REGN-COV2, производимый *Regeneron Pharmaceuticals*, представляет собой смесь двух нейтрализующих синтетических антител, казиривилаба (*REGN10933*) и имдевилаба (*REGN10987*), нацеленных на неперекрывающиеся эпитопы вирусного шипового белка. С ноября 2020 года *REGN-COV2* получил разрешение *FDA* на экстренное использование для лечения *COVID-19* от легкой до умеренной степени тяжести, взрослых и детей старше 12 лет, с массой тела 40 кг и с высоким риском развития тяжелой формы *COVID-19*. Это разрешение на экстренное использование распространяется на лиц в возрасте 65 лет и старше или лиц с хроническими заболеваниями. В доклиническом исследовании *REGN-COV2* снижал вирусную нагрузку в верхних и нижних дыхательных путях при применении в качестве профилактического или лечебного средства у макак-резусов. В экспериментальной модели на животных *REGN-COV2* снижал титры *SARS-CoV-2* в легких [3].

Заражение человека в действительности происходит при проникновении

в его организм не одного варианта вируса, а целой популяции генетически близкородственных вариантов, возникших в результате мутаций, приобретенных в ходе инфекционного цикла вируса в предыдущих хозяевах. Такая концепция очень важна для понимания механизма ускользания вируса от иммунного ответа. Одни варианты вируса могут быть нейтрализованы антителами организма человека, а другие, к которым у антител низкое сродство, могут получить эволюционное преимущество и стать драйверами *ADE* (*antibody-dependent enhancement*) [1].

Одним из их неблагоприятных эффектов является *ADE* – антителозависимое усиление инфекции, которое обычно вызывается вакцинно-индуцированными субоптимальными антителами, облегчающими проникновение вируса в клетку хозяина. В ряде исследований было показано, что вакцина против *SARS-CoV* на основе полноразмерного S-белка облегчает инфицирование вирусом клеток человека *in vitro*. Кроме того, введение анти-S-белковой сыворотки также приводит к повышению вирулентности *SARS-CoV*. Эти результаты вызывают сомнения в безопасности вакцин против *SARS-CoV* и *MERS-CoV* на основе S-белка [2].

При *ADE* вирусоспецифические антитела *IgG* формируют несовершенные, непрочные комплексы с вирусом, облегчая тем самым инфицирование лейкоцитов, несущих рецептор *FcγRII*. Комплекс антитела с вирусом связывается с *FcγRII* иммунных клеток и поглощается ими. В норме аффинность вирусоспецифических нейтрализующих и одновременно протективных антител гораздо выше, что и приводит к инактивации и последующей элиминации вируса. Вирус, будучи внутри моноцита или макрофага в прочном комплексе с антителом, не может высвободиться и подвергается разрушению. В этом случае происходит выздоровление. Однако в случае *ADE* вирус, будучи внутри иммунной клетки в непрочном комплексе, вирус освобождается от антитела и начинает репликативный цикл. Для *SARS-CoV* показано, что вирусспецифические антитела к S-белку могут способствовать проникновению вируса в В-клетки и макрофаги. Способность вируса реплицироваться в В-клетках не изучалась. В то же время показано, что в макрофагах вирус начинает реплицироваться, но не дает продуктивной инфекции. Репликация вируса даже без образования инфекционных вирионов может приводить к массовой гибели макрофагов и других иммунных клеток, несущих *FcγRII*, что способствует прогрессированию болезни. Причиной феномена *ADE* у бетакоронавирусов может быть антигенная изменчивость S-белка, обусловленная не только вариабельностью аминокислотной последовательности, но и ее конформационной подвижностью, что приводит к перестройкам в антигенных детерминантах. Механизм *ADE* у бетакоронавирусов изучен на примере меняющихся иммунодоминантных детерминант S-белка вирусов *SARS-CoV* и *MERS-CoV*. У вирусов *SARS-CoV* и *SARS-CoV-2* этот домен высокогомологичен и отвечает за связывание одного и того же мембранного клеточного рецептора – ангиотензинконвертирующего фермента-2 (*ACE2*; *angiotensin converting enzyme 2*), который способствует

проникновению в клетку для обоих вирусов. *Ricke* и соавт. выдвинули гипотезу, что для заражения иммунных клеток вирусы *SARS-CoV*, *MERS-CoV* и *SARS-CoV-2* используют универсальный механизм, приводящий к *ADE*. Иммунодоминантные эпитопы в S-белке *SARS-CoV-2* формируют аминокислотные остатки в позициях от 441 до 700. В изолятах *SARS-CoV-2* в позиции 614 S-белка часто находят либо аспарагиновую кислоту, либо глицин (614D/G). Некоторые исследователи связывают замену в этой позиции со способностью вируса вызывать *ADE*. Аминокислотный остаток D614 расположен на границе участков β -структуры и спирали типа полипролин II (согласно классификации вторичных структур белков). Позиция 614 находится на некотором расстоянии от *RBD*, однако замена отрицательно заряженной аспарагиновой кислоты на нейтральный глицин может играть ключевую роль в возникновении *ADE* из-за изменения антигенных детерминант. *Korber* и соавт. для объяснения этого феномена предложили две гипотезы. Первая заключается в том, что замена аминокислоты может вызывать *ADE* напрямую, что обусловлено изменением константы связывания антител с антигеном, в состав которого входит аминокислотный остаток 614. Выводы основаны на том, что у *SARS-CoV-1* антитела к пептиду *LYQDVNC* вызывают *ADE*. Этот семичленный пептид идентичен в S-белках *SARS-CoV-1* (597–603) и *SARS-CoV-2* (611–617). Согласно второй гипотезе, замена аминокислоты в позиции 614 может приводить к *ADE*, инициируя переход открытой конформации S-белка в закрытую. Такой конформационный переход может быть связан с ослаблением взаимодействия между субъединицами S1 и S2 из разных молекул S-белка в составе гомотримера. Именно это и происходит при замене заряженной аспарагиновой кислоты на нейтральный глицин в позиции 614 – исчезает водородная связь между субъединицами S1 и S2. *ADE* может быть обусловлено изменением сайтов гликозилирования в молекуле S-белка. С одной стороны, известно, что углеводные цепи белков затрудняют связывание антител с эпитопами и тем самым способствуют образованию низкоаффинных комплексов антитело-вирус, то есть способствуют *ADE*. С другой стороны, сами углеводные цепи могут входить в состав антигенных детерминант, а их отсутствие в составе белка будет приводить к снижению аффинности связывания антитела с антигеном [1].

Выводы. На сегодняшний день моноклональные антитела доказали свою эффективность в борьбе с *SARS-CoV-2*. Параллельно ведутся новые разработки. В ряде случаев активно используется гипериммунная плазма переболевших пациентов. Детально анализируется возможность антителозависимого усиления инфекции. Одним из возможных путей предотвращения *ADE* является разработка вакцин, содержащих только основные нейтрализующие эпитопы, такие как субъединица *S1* или рецептор-связывающий домен *RBD* белка *S*, что позволит уменьшить выработку ненейтрализующих антител и ослабить эффект антителозависимого усиления инфекции.

Литература

1. Проблемы создания вакцин против бетакоронавирусов: антителозависимое усиление инфекции и вирус Сендай как возможный вакцинный вектор / Т. А. Зайчук,

Ю. Д. Нечипуренко, А. А. Аджубей [и др.] // Молекулярная биология. – 2020. – Т. 54. – № 6. – С. 922-938.

2. Разработка вакцин для профилактики коронавирусной инфекции: от SARS и MERS до COVID-19 / Й. Д. Ли, В. Ю. Чи, Ц. Х. Су [и др.] // *Juvenis Scientia*. – 2020. – Т. 6. – № 6. – С. 41-80.

3. Bakhiet, M. SARS-CoV-2: Targeted managements and vaccine development // M. Bakhiet, S. Taurin//*Cytokine Growth Factor Rev*. – 2021. – V. 58. – P. 16–29.

4. Chung, J.Y. COVID-19 vaccines: The status and perspectives in delivery points of view // J.Y. Chung, M.N. Thone, Y.J. Kwon //*Adv Drug Deliv Rev* – 2021. – V. 170. – P. 1-25.

5. Soleimanpour, S. COVID-19 vaccine: where are we now and where should we go? / S. Soleimanpour, A. Yaghoubi //*Expert Rev Vaccines*. – 2021. – 20 (1). – P. 23-44.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАСКИ В УСЛОВИЯХ КОРОНАВИРУСНОЙ ПАНДЕМИИ

Грищенко А.Н., Меленец М.А., Зинчук В.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра нормальной физиологии

Актуальность. В начале декабря 2019 года несколько медицинских учреждений впервые сообщили о случаях пневмонии неизвестного происхождения в городе Ухань, столице провинции Хубэй, которая в дальнейшем стала стремительно распространяться по всему миру. 11 февраля 2020 года возбудитель этой инфекции был классифицирован Всемирной Организацией Здравоохранения как SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome-Corona Virus-2), относящийся к семейству *Coronaviridae*, подсемейству *Orthocoronavirinae*, роду *Betacoronavirus*, суброду *Sarbecovirus*, а заболевание, вызываемое данным вирусом, – как COVID-19 (Corona Virus Disease 2019) [1].

SARS-CoV-2 является оболочным вирусом, который содержит одноцепочечную (+) РНК размером 30 тыс. нуклеотидов. Две трети генома на 5'-конце кодируют неструктурные белки, включая РНК-зависимую РНК-полимеразу. Одна треть генома ближе к 3'-концу кодирует четыре структурных белка – мембранный белок М, белок оболочки Е, нуклеокапсидный белок N, а также относящийся к гликопротеинам шиповидный белок S (spike), который выступает над поверхностью вирусного капсида, образуя структуры наподобие «шипиков», предназначенные для контакта с поверхностью клетки-хозяина [2].

Входными воротами для проникновения SARS-CoV-2 является ACE2 – ангиотензинпревращающий фермент 2-го типа, с которым связывается шиповидный S-белок (spike protein). SARS-CoV-2, в основном, локализуется в нижних отделах дыхательной системы, что обусловлено повышенным содержанием ACE2 в альвеолоцитах 1-го и 2-го типа. Такая локализация обуславливает опасность данного заболевания, тяжесть его протекания и возникновения возможных осложнений [1].

В связи с широким распространением коронавирусной инфекции по всему миру (на момент написания данной публикации в мире зафиксировано более 200 миллионов заболевших COVID-19 в более чем 190 странах) и тяжестью протекания заболевания разрабатываются разнообразные способы профилактики и контроля распространения данной инфекции. Одним из таких способов профилактики является использование медицинских масок в местах массового скопления людей. Однако существует мнение о неблагоприятном влиянии масочного режима на кислородное обеспечение организма.

Цель. Оценить эффект масочного режима на кислородное обеспечение организма.

Материалы и методы исследования. В исследование включены студенты 2-го курса медицинского факультета (15 юношей) учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет». Все выполненные манипуляции у студентов осуществляли с их информированного согласия и с разрешения комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета.

Влияние масочного режима на кислородное обеспечение организма изучалось и оценивалось до и спустя один час ношения медицинской маски с использованием спирометрического комплекса МАС-1 (режим пульсоксиметрии), с помощью критериев, отражающих текущее состояние организма, а именно уровень насыщения (сатурации) крови кислородом и частоту сердечных сокращений (ЧСС). Оценку влияния масочного режима на функции внешнего дыхания проводили до и спустя один час ношения медицинской маски с помощью двух специальных функциональных легочных проб, а именно пробы Штанге и Генчи.

При измерении уровня насыщения гемоглобина артериальной капиллярной крови кислородом (SpO_2) обследуемому устанавливается датчик на первый палец кисти руки, т.к. его кровоснабжение лучше, чем у других пальцев и оно реже нарушается. Далее включаем аппарат и начинается процесс измерения SpO_2 и ЧСС, который длится 20-30 секунд и после аппарат выводит результаты на монитор.

Функциональные дыхательные пробы Штанге (на вдохе) и Генчи (на выдохе) позволяют оценить обеспеченность организма кислородом. Перед замером обследуемому необходимо сделать три обычных цикла вдох-выдох, примерно на $\frac{3}{4}$ глубины полного вдоха. Затем, если проводится проба Штанге, необходимо задержать дыхание после глубокого вдоха. Проба Генчи проводится после максимального выдоха. С помощью секундомера подсчитывается время задержки дыхания [3].

Статистическую обработку проводили с помощью «STATISTICA 10.0». Все данные проверялись на соответствие вида распределения признака закону нормального распределения с использованием критериев Шапиро-Уилка и Лиллиефорса. Результаты представлены в виде медианы, 25 и 75-го перцентиля – Me [25; 75]. С учетом малых размеров выборки, а также отсутствия нормального распределения в группах для сравнения двух выборок

использовали непараметрический тест (критерий) Уилкоксона при установленном уровне значимости $p=0,05$.

Результаты. При использовании медицинской маски вначале значение уровня сатурации равно 97 [95; 98]%, а после использования маски в течение одного часа значение данного показателя составило 98 [95; 98]%. При исследовании эффекта масочного режима на ЧСС установили, что до ношения медицинской маски ЧСС равно 82 [78; 90] уд/мин, а спустя один час использования маски – 79 [72; 90] уд/мин. При статистическом сравнении двух выборок (до и после) установили, что масочный режим не вызывает достоверных изменений уровня сатурации и ЧСС по сравнению с исходными значениями.

Исходные значения функциональных проб Штанге и Генчи равны 55 [33; 73] секунд и 19 [15; 22] секунд соответственно, которые соответствуют норме. Спустя один час ношения маски значения данных проб оказались равны 56 [31; 65] секунд (для пробы Штанге) и 22 [16; 26] секунд (для пробы Генчи), что также является нормой. При сравнении двух выборок (до и после) уровни значимости для проб Штанге и Генчи равны 0,481 и 0,178 соответственно, которые являются выше установленного уровня значимости ($p>0,05$), т.е. ношение медицинской маски не вызывает статистически значимых изменений данных показателей.

Выводы. По результатам исследования можно сделать вывод, что масочный режим в условиях коронавирусной пандемии не оказывает отрицательного эффекта на кислородное обеспечение организма. Ношение медицинских масок, используемых как один из наиболее эффективных способов ограничения распространения коронавирусной инфекции в местах массового скопления людей, не ухудшая физическое и психофизиологическое состояние людей. Полученные результаты могут быть использованы при организации различных профилактических бесед среди населения по ограничению распространению коронавирусной инфекции в условиях пандемии.

Литература

1. Шпаков, А.О. Ангиотензин-превращающий фермент 2-го типа, как молекулярный посредник для информирования клетки вирусами SARS-CoV и SARS-CoV-2 / А.О. Шпаков // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2020. – № 7. – С. 795 – 810.
2. Шатунова, П.О. Ангиотензин превращающий фермент 2. Подходы к патологической терапии COVID-19 / П.О. Шатунова, А.С. Быков [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2020. – № 97 (4). – С. 339-345.
3. Погоньшева, И.А. Факторы риска снижения устойчивости к кислородной недостаточности у студентов в условиях Среднего Приобья / И.А. Погоньшева, Д.А. Погоньшев // Математические и естественные науки. – 2015. – № 3. – С. 78-84.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ ТУБЕРКУЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ СРОКАМИ АМБУЛАТОРНОГО И СТАЦИОНАРНОГО ЭТАПОВ ЛЕЧЕНИЯ

Гуревич Г.Л., Климук Д.А., Калечиц О.М., Скрыгина Е.М., Бобрукевич Е.Л., Тышко М.А., Данькова А.В., Ильясова Е.В., Соколовская В.В., Глинская Т.Н., Дюсьмикеева М.И.

ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии»,
г. Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Соблюдение пациентом схемы противотуберкулезной терапии является определяющим фактором успеха лечения и предотвращения лекарственной устойчивости. Тем не менее, во многих странах, в том числе в Республике Беларусь, значительная часть пациентов с туберкулезом часто прерывает лечение по различным причинам [1]. Существующие схемы лечения лекарственно-устойчивого туберкулеза остаются сложными для пациентов, продолжительными по времени со многими нежелательными реакциями, которые могут потребовать адаптации к лечению [2-3]. Доступ к своевременной диагностике и дружественным к пациенту схемам лечения лекарственно-устойчивого туберкулеза по-прежнему являются приоритетными задачами в борьбе с туберкулезом [4].

Цель. Анализ эффективности лечения пациентов с туберкулезом.

Материалы и методы исследования. Объектом ретроспективного когортного исследования являлись пациенты с туберкулезом, проходившие стационарное и амбулаторное лечение туберкулеза в период 2015-2019 гг. (15617 пациентов). Лекарственно-чувствительная форма туберкулеза была установлена у 9915 пациентов, множественно лекарственно-устойчивая – у 5702 пациентов. Из 15617 пациентов окончательные результаты лечения были зарегистрированы у 13274 пациентов.

Анализ эффективности лечения пациентов с туберкулезом проводился на основе данных государственного электронного регистра «Туберкулез», материалов, подготовленных по результатам проверок оказания противотуберкулезной помощи населению регионов Республики Беларусь, данных ведомственной статистической отчетности по туберкулезу. Статистическая обработка данных проведена с использованием программ MS Office Excel, Statistica, Origin.

Результаты. В последние годы отмечается положительная динамика заболеваемости туберкулезом в республике Беларусь.

Наблюдается снижение абсолютного количества выявленных случаев: в 2019 г. количество случаев составило 1758, что на 46,2% ниже по сравнению с 2015 г. и на 59,5% ниже по сравнению с 2010 г.

Несмотря на ежегодное снижение общего количества регистрируемых случаев туберкулеза, структура случаев туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью имеет неоднородную тенденцию.

Отмечается сокращение доли случаев туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью среди ранее леченых случаев (59,9% в 2019 г., снижение по сравнению с 2015 г. (65,8%) на 9,0%) и рост доли случаев туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью среди новых случаев (38,2% в 2019 г., рост по сравнению с 2015 г. (34,3%) на 11,4%).

Изучена динамика результативности лечения среди когорты пациентов с туберкулезом в зависимости от модели лекарственной устойчивости (лекарственно-чувствительный туберкулез, МЛУ-ТБ, ШЛУ-ТБ), а также наличия коморбидной ВИЧ-инфекции (ВИЧ-ТБ).

Эффективность лечения пациентов с лекарственно-чувствительным туберкулезом в период 2015-2019 гг. оставалась стабильно высокой, эффективность лечения увеличилась на 7,8 % (в 2015 г. доля случаев, успешно завершивших лечение, составляла 80,6%, в 2017 г. – 86,9%). Доля случаев с исходами лечения «потеря для последующего наблюдения» (ПДПН) и «неудача в лечении» оставалась достаточно низкой – в 2019 г. 1,5% и 2,0% соответственно.

В отношении когорты пациентов с лекарственно-устойчивым туберкулезом имеется необходимость отдельной оценки эффективности лечения по когортам МЛУ-ТБ и ШЛУ-ТБ.

При анализе когорты пациентов с МЛУ-ТБ в 2019г. после 24 месяцев лечения, эффективность лечения пациентов, начавших лечение в 2017 г., увеличилась на 35,3 % (в 2015 г. доля случаев, успешно завершивших лечение, составляла 55,2%, в 2017 г. – 74,7%).

Доля случаев, зарегистрированных как «неудача в лечении» снизилась с 21,8% в 2013 г. до 7,8% в 2017 г. Доля случаев, зарегистрированных как «потеря для последующего наблюдения», оставалась на одном уровне: в 2013 г. зарегистрировано 11,8%, в 2017 г. – 9,8%.

При анализе когорты пациентов с ШЛУ-ТБ в 2019г. после 24 месяцев лечения, эффективность лечения пациентов, начавших лечение в 2017 г., увеличилась на 49,1% (в 2015 г. доля случаев, успешно завершивших лечение, составляла 40,3%, в 2017 г. – 60,0%). Доля случаев, зарегистрированных как «неудача в лечении» снизилась с 36,6% в 2013 г. до 21,5% в 2017 г.

Доля случаев, зарегистрированных как «потеря для последующего наблюдения», оставалась на одном уровне: в 2013г. зарегистрировано 16,0%, в 2017 г. – 15,5%.

При анализе когорты пациентов с М/ШЛУ-ТБ в сочетании с ВИЧ-инфекцией в 2019 г. после 24 месяцев лечения, эффективность лечения пациентов, начавших лечение в 2017 г., увеличилась на 26,5% (в 2015г. доля случаев, успешно завершивших лечение составляла 41,8%, в 2017 г. – 52,9%). Доля случаев, зарегистрированных как «неудача в лечении» снизилась с 25,5% в 2013 г. до 13,5% в 2017 г. Доля случаев, зарегистрированных как «потеря для последующего наблюдения», возросла с 7,9% в 2013 г. до 8,8% в 2017 г.

Дополнительно изучены результаты абациллирования пациентов с МЛУ-ТБ через 6 месяцев лечения как показатель промежуточного успеха лечения

согласно критериям ВОЗ. Доля пациентов с МЛУ-ТБ абациллированных через 6 месяцев лечения увеличилась на 17,7% (в 2015 г. доля абациллированных пациентов составляла 77,4%, в 1 квартале 2019 г. – 91,1%).

Таким образом, отмечается рост доли случаев, успешно завершивших лечение во всех когортах пациентов (лекарственно-чувствительный туберкулез, МЛУ-ТБ, ШЛУ-ТБ, М/ШЛУ-ТБ в сочетании с ВИЧ-инфекцией). Одновременно с этим снижается доля случаев, для которых окончательный исход лечения зарегистрирован как «неудача в лечении», однако в когортах пациентов с МЛУ-ТБ и ШЛУ-ТБ доля случаев с исходом «потеря для последующего наблюдения» оставалась на одинаковом уровне, в когорте М/ШЛУ-ТБ в сочетании с ВИЧ-инфекцией отмечался рост данного показателя.

Выводы. Установлено, что за период 2015-2019 гг. наблюдалась положительная динамика эффективности лечения пациентов с туберкулезом в различных когортах: лекарственно-чувствительного туберкулеза – эффективность лечения увеличилась на 7,8 % (в 2015 г. доля случаев, успешно завершивших лечение составляла 80,6%, в 2017 г. – 86,9%); лекарственно-устойчивого (МЛУ-ТБ) туберкулеза – эффективность лечения увеличилась на 35,3 % (в 2015 г. доля случаев, успешно завершивших лечение составляла 55,2%, в 2017 г. – 74,7%); лекарственно-устойчивого (ШЛУ-ТБ) туберкулеза – эффективность лечения увеличилась на 49,1 % (в 2015 г. доля случаев, успешно завершивших лечение, составляла 40,3%, в 2017 г. – 60,0%); лекарственно-устойчивого (М/ШЛУ-ТБ) туберкулеза – в сочетании с ВИЧ-инфекцией эффективность лечения увеличилась на 26,5 % (в 2015 г. доля случаев, успешно завершивших лечение, составляла 41,8%, в 2017 г. – 52,9%).

Литература

1. Гуревич, Г.Л. Программно-целевой подход при планировании противотуберкулезных мероприятий и основные направления деятельности противотуберкулезной службы / Г.Л. Гуревич, Л.А. Жилевич, Е.М. Скрыгина, А.П. Астровко, А.С. Дубровский // Мультирезистентный туберкулез: новые научные достижения и их практическое применение. – 2016. – С.24–30.

2. Migliori, G.B. ERS/ECDC Statement: European Union standards for tuberculosis care, 2017 update / Migliori G.B., Sotgiu G., Rosales-Klintz S. et al. // Eur. Respir. J. – 2018: May 17;51(5). pii: 1702678. doi: 10.1183/13993003.02678-2017. Print 2018 May.

3. Pedrazzoli, D. Measuring the economic burden for TB patients in the End TB Strategy and Universal Health Coverage frameworks / Pedrazzoli D., Borghi J., Viney K. et al. // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2019: Jan 1;23(1):5-11. doi: 10.5588/ijtld.18.0318.

ИСХОД ЛЕЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВОГО ТУБЕРКУЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Демидик С.Н., Алексо Е.Н., Вольф С.Б.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра фтизиопульмонологии

Актуальность изучаемой проблемы определяется увеличением

количества пациентов с туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью микобактерий (МЛУ-ТБ), так и распространенностью сахарного диабета. Туберкулез выявляется чаще у пациентов с декомпенсированным или осложненным течением сахарного диабета [2].

Цель. Провести сравнительный анализ исходов лечения МЛУ-ТБ в группах пациентов с сахарным диабетом и без значимых отягощающих факторов.

Материалы и методы исследования. Объектом исследовательской работы явилось обследование 91 пациента с МЛУ-ТБ. Основную группу (ОГ) составили 21 пациента с МЛУ-ТБ и сахарным диабетом. Группа сравнения (ГС) – 70 пациентов с МЛУ-ТБ без значимых факторов риска.

При сравнительном анализе клинических характеристик пациентов ОГ и ГС не было выявлено значимых различий по полу, возрасту, истории предыдущего противотуберкулезного лечения, спектру лекарственной устойчивости микобактерий.

При поступлении инфильтративный туберкулез легких был диагностирован в 60,0% случаев ОГ против 82,0% в ГС ($p < 0,05$). У пациентов ОГ распространенный характер туберкулезного процесса отмечен в 72,0% случаев против 42,0% в ГС ($p < 0,05$). Исходно у пациентов с МЛУ-ТБ наличие деструкции в легких было подтверждено в ОГ и в ГС у 68,0% и 30,0% соответственно, ($p < 0,05$). При поступлении в стационар декомпенсация или субкомпенсация углеводного обмена была установлена у 68% пациентов ОГ. Всем пациентам после дополнительного обследования и консультации эндокринолога проводилась коррекция терапии сахарного диабета.

После окончания курса лечения проведена оценка исходов терапии пациентов с МЛУ-ТБ в группах (когортный анализ). При сравнительном анализе использовались стандартные критерии: «успешное лечение» – сумма случаев туберкулеза с исходами «излечение» и «лечение завершено», «неэффективное лечение», «смерть», «потеря для последующего наблюдения» [1].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием прикладных программ STATISTICA (версия 10.0).

Результаты. При сравнительном анализе исходов основного курса лечения в группах пациентов с МЛУ-ТБ без отягощающих факторов и с СД не установлено значимого влияния данного фактора риска на показатель «успешное лечение» (табл. 1).

Отмечено, что исход «смерть» на фоне основного курса лечения (от любой причины) зарегистрирован в 3,4 раза чаще у пациентов ОГ с СД и составил 14,3% против 4,3% в ГС ($p > 0,05$).

Выводы. Таким образом, наличие СД у пациентов с МЛУ-ТБ приводит к утяжелению течения туберкулезного процесса в легких (высокая доля распространенного процесса с наличием деструкции).

При оценке исходов лечения пациентов с МЛУ-ТБ не установлено значимого влияния сахарного диабета на показатель «успешное лечение». Доказано, что назначение комбинированной индивидуальной химиотерапии,

коррекция уровня глюкозы в крови позволяет достичь высоких показателей успешного исхода лечения.

Таблица 1. – Результат лечения пациентов с МЛУ-ТБ основной группы и группы сравнения

Исход лечения	Группы пациентов		Р
	ОГ (+СД), n=21 абс. (%)	ГС, n=70 абс. (%)	
Излечен	17 (81,0)	54 (77,1)	>0,05
Лечение завершено	–	8 (11,5)	>0,05
Успешное лечение	17 (81,0)	62 (88,6)	>0,05
Неэффективное лечение	–	–	>0,05
Потеря для последующего наблюдения	1 (4,7)	5 (7,1)	>0,05
Смерть	3 (14,3)	3 (4,3)	>0,05

Примечание – $p > 0,05$ – отсутствие достоверных различий между показателями при попарном сравнении всех групп.

Литература

1. Диагностика и лечение пациентов с туберкулезом (взрослое, детское население): клинический протокол: утв. Министерством здравоохранения Республики Беларусь 04 апреля 2019 г. регистр. № 26. – Минск: Респ. центр гигиены, эпидемиологии и обществ. здоровья, 2019. – 15 – 76 с.

2. Комиссарова, О.Г. Эффективность лечения больных туберкулезом легких с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя в сочетании с разными типами сахарного диабета / О. Г. Комиссарова [и др.] // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2015. [и др.] № 3. – С. 45–51.

КОМПОЗИЦИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО СРЕДСТВА С ШИРОКИМ СПЕКТРОМ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

Джаббар Мустафа Салех Джаббар¹, Кузнецов О.Е.^{1, 2}

¹Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Беларусь
Кафедра биохимии

²Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга

Актуальность. При разработке антимикробных (биоцидных, дезинфицирующих) средств используются вещества различных химических групп: поверхностно-активные вещества, галоидосодержащие, окислители, альдегиды, спирты, кислоты, щелочи, неионогенные поверхностно-активные вещества и др. [1, с.50]. Наиболее широко в практике используются средства на основе хлора, перекиси водорода, четвертичных аммонийных соединений и альдегидов. При имеющихся достоинствах вышеназванных химических веществ, следует упомянуть об определенном роде их недостатках: токсичность, экологическая опасность, недостаточный биоцидный эффект,

негативное действие на организм человека [2, с.11].

Таким образом, традиционно используемые биоцидные и дезинфицирующие средства представляют собой композиции нескольких действующих веществ из разных химических групп в различных соотношениях, не всегда выполняющие предъявляемые к ним требования, что вынуждает заниматься разработкой и поиском новых композиций с лучшими характеристиками.

Цель. Разработка антибактериального средства с широким спектром антимикробной активности и пролонгированным эффектом.

Материалы и методы исследования. Материал исследования: разработанная композиция водного раствора на основе нетоксичных полимеров производных гуанидина (экстракта гуаны) – полиалкиленгуанидинов. Методы исследования: культуральное микробиологическое исследование (т=96): оценка активности в отношении тест-культур *E.coli*, *St.aureus*, *C.albicans*, *P.aeruginosa* в соответствии с инструкцией по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь «Методы проверки и оценки антимикробной активности дезинфицирующих и антисептических средств», регистрационный № 11-20-204-200, утв. 22.12.2003 г. гл. гос. сан. врачом МЗ РБ. Культуры микроорганизмов, выращенные на плотной питательной среде в течение 24 часов, смывали стерильным изотоническим раствором хлорида натрия. Бактериальную суспензию микроорганизма доводили до мутности, соответствующей концентрации $1,5 \times 10^8$ клеток/мл, что соответствует 5 единицам Мак-Фарланда (измерение денситометром DEN-1, Biosan). В пробирки с 4 мл стерильного мясо-пептонного бульона вносили исследуемое вещество с концентрацией вещества в бульоне от 2% до 0,01% (2%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,1%, 0,06%, 0,03%, 0,02%, 0,01%), в каждую пробирку добавляли по 0,2 мл взвеси микроорганизмов. Контроль жизнеспособности микроорганизма – посев микробной культуры, и контроль стерильности разработанной композиции – без добавления культуры микроорганизма (посев приготовленного раствора в стерильный бульон). Через 24 часа инкубации содержимое всех пробирок высевали в стерильные чашки Петри (0,1 мл) с питательной средой. Учет результатов исследования производили после инкубации в термостате при температуре 37°C со второго дня инкубации в течении 7 суток.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием программного пакета Statistica. Отличия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. В результате исследования установлено, что средство в концентрации 0,01-2,0% действующего вещества проявило свою эффективность (бактериоцидность) относительно исследуемых штаммов культур (табл. 1).

Таблица 1. – Микробиологическая активность разработанной композиции раствора

Удельный вес действующего вещества, % / контроль	<i>E. coli</i>	<i>St. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Контроль жизнеспособн.	рост микроорга-ма	рост микроорга-ма	рост микроорга-ма	рост микроорга-ма
2%	нет роста	нет роста	нет роста	нет роста
1%	нет роста	нет роста	нет роста	нет роста
0,5%	нет роста	нет роста	нет роста	нет роста
0,25%,	нет роста	нет роста	нет роста	нет роста
0,1%	нет роста	нет роста	нет роста	нет роста
0,06%	нет роста	нет роста	нет роста	нет роста
0,03%	нет роста	нет роста	нет роста	нет роста
0,02%	нет роста	нет роста	нет роста	нет роста
0,01%	единичные колонии, 20%	единичные колонии, 20%	единичные колонии, 20%	единичные колонии, 20%

Из общего числа выполненных 96 экспериментальных микробиологических исследований достоверно установлен высокий уровень антимикробной активности в отношении изученных культур *E. coli*, *St. aureus*, *C. albicans*, *P. aeruginosa*, при концентрации действующего вещества 0,01-2,0% и времени инкубации от 15 минут ($p < 0,05$). Оценка эффекта роста микроорганизмов (качественная оценка) во времени позволяет сделать вывод, что рост микроорганизмов не наблюдался во временном промежутке 24-72 часа, с 72 по 168 час наблюдений рост контрольных культур микроорганизмов обнаружен в 29,16% случаев (28 микробиологических исследований).

Данная композиция безопасна в использовании, не оказывает раздражающего действия в изученных концентрациях на кожу (III кл. умеренно опасных веществ при введении в желудок, IV кл. малоопасных веществ при нанесении на кожу) [3], верхние дыхательные пути (пары средства при ингаляционном воздействии малоопасные, при введении в брюшную полость относится к малотоксичным соединениям), не вызывает деструкции обрабатываемой поверхности и коррозии металлов (ТУ РБ691777053,016-2017).

Выводы. Разработанная на основе производных гуанидина антибактериальная композиция (полигексаметиленгуанидина гидрохлорид, вода, дезодорирующая субстанция, рН=7,05-10,4) обладает достаточным спектром антимикробной активности с пролонгированным действием в малых концентрациях действующего вещества, экологической и эксплуатационной безопасности, а также дезодорирующими свойствами и возможна к использованию для дезинфекции (поверхностей, мебели, приборов, санитарно-технического оборудования, предметов ухода за пациентами, уборочного инвентаря, изделий медицинского назначения перед их утилизацией при инфекциях бактериальной, грибковой этиологии в учреждениях

здравоохранения, учреждениях образования, коммунальных объектах, предприятиях общественного питания, транспорта).

Литература

1. Пантелеева Л.Г. Современные антимикробные дезинфектанты / Основные итоги и перспективы разработки новых средств // Дезинфекционное дело. – 2005. – № 2. – С.49-56.
2. Kuznetsov, O. Biocide with prolonged action / O. Kuznetsov, A. Pavliukovets, D. Bolotov // Norwegian Journal of Development of the International Science. – № 17-2. – 2018. – P.10-12.
3. Научно исследовательский институт дезинфектологии Российской Федерации / Отчет о токсичности и опасности соединения (субстанции). – 11.09.1999. – Москва.

НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА КАК ЭФФЕКТИВНОЕ СРЕДСТВО БОРЬБЫ С АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫМИ ФОРМАМИ KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Довнар Р.И.¹, Васильков А.Ю.², Соколова Т.Н.³, Бутенко И.Е.²

¹Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Вторая кафедра хирургических болезней,

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт
элементоорганических соединений имени А.Н.Несмеянова Российской
академии наук», Российская Федерация

Группа металлсодержащих гибридных материалов,

³Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Актуальность. Огромной проблемой современной медицины и хирургии в частности является лечение заболеваний, вызванных полиантибиотикорезистентной формой *Klebsiella pneumoniae*. По данным мировой литературы смертность у таких пациентов может достигать 40-50%, особенно у лиц, имеющих факторы риска, тяжелую сопутствующую патологию либо принимающих иммунодепрессанты, например, в связи с перенесенной трансплантацией органов [1]. Для борьбы с данной формой микроорганизма предложены различные способы преодоления антибактериальной резистентности, как например использование высоких доз меропенема, колистина, фосфомицина, тайгециклина, аминогликозидов или их комбинаций [2]. В течение последнего десятилетия происходит разработка и клиническая апробация новых антибактериальных препаратов и методов скрининга, воздействующих на резистентную к антибиотикам *Klebsiella pneumoniae*. К примеру, в эндемичных по данному микроорганизму районах Италии с целью скрининга даже производится взятие ректального мазка у поступающих пациентов, что позволило выявить переносчиков полиантибиотикорезистентной *Klebsiella pneumoniae* в 3,9 % случаев [3]. Безусловно, данный метод не найдет широкого применения и критически оценивается другими врачами. В целом до настоящего времени не разработано ни одного эффективного метода борьбы, пригодного во всех случаях, вызванных

полиантибиотикорезистентной клебсиеллой.

Другой проблемой лечения пациентов с таким микроорганизмом является задержка в начале терапии. Даже при использовании современных методов микробиологической диагностики срок для окончательного получения результатов бактериального посева достигает 5 дней в связи с транспортировкой, наличием выходных дней работы лаборатории и связанных служб, доставкой результата и т.д. Все это время производится эмпирическая антибактериальная терапия, которая только усугубляет течение полиантибиотикорезистентной формы заболевания, вызванного *Klebsiella pneumoniae*.

Цель. Оценить количественные характеристики антибактериального действия наночастиц серебра на полиантибиотикорезистентную форму *Klebsiella pneumoniae*.

Материалы и методы исследования. Для выполнения исследования бы высеян клинический патогенный штамм *Klebsiella pneumoniae* из гнойной раны хирургического пациента УЗ «Гродненская университетская клиника», произведена идентификация и определение антибиотикограммы на микробиологическом анализаторе Vitek 2 Compact фирмы «BioMérieux».

Наночастицы были получены из Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт элементоорганических соединений имени А.Н.Несмеянова Российской академии наук» (Российская Федерация), в форме золя в изопропиловом спирте.

Антибактериальное действие наночастиц серебра оценивалось методом разведений, путем определения минимальной ингибирующей концентрации наночастиц в питательном бульоне. Микробиологическая часть эксперимента выполнялась в стерильных 96-луночных планшетах с крышкой. Концентрация микроорганизмов подбиралась заранее и контролировалась по стандарту мутности. В качестве питательного бульона использовался мясопептонный бульон Мюллера-Хинтона. В первой лунке планшета создавалась концентрация равная 1:2 от изначальной наночастиц серебра, в последующих лунках формировались концентрации 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64; 1:128, 1:256. В качестве контроля использовали лунки с мясопептонным бульоном, микроорганизмами и изопропиловым спиртом (контроль-1), мясопептонным бульоном и взвесью микроорганизмов (контроль-2), только мясопептонным бульоном (контроль-3). После заполнения лунок определяли оптическую плотность на фотометре опытной и контрольных групп.

Результаты. Первоначально была определена антибиотикограмма изучаемого микроорганизма *Klebsiella pneumoniae*. Данный микроорганизм был устойчив к 93,3% изученных антибиотиков, в том числе к пенициллинам, цефалоспорином, карбапенемам, фторхинолонам и аминогликозидам. Таким образом, взятый в исследование штамм относился к полиантибиотикорезистентному.

В таблице 1 представлены результаты исследований количественных характеристик антибактериального действия наночастиц серебра по отношению

к *Klebsiella pneumoniae*, в частности определения минимальной ингибирующей концентрации.

Таблица 1. – Результаты роста *Klebsiella pneumoniae* после 24-часовой инкубации в термостате при 37°C в различных группах

Штамм микроорганизма	Группа	Номер разведения							
		1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	опыт	н	н	н	н	н	р	р	р
	контроль-1	н	н	н	р	р	р	р	р
	контроль-2	р	р	р	р	р	р	р	р
	контроль-3	н	н	н	н	н	н	н	н

Примечания –

- 1) н – в лунке отсутствует рост микроорганизмов;
- 2) р – в лунке имеется рост микроорганизмов.

Выполнив соответствующие математические вычисления представленных в таблице 1 данных, с учётом разведений, было получено, что минимальная ингибирующая концентрация наночастиц серебра в изопропанолe составляет для *Klebsiella pneumoniae* 31,25 мкг/мл.

Наличие выраженной антибактериальной устойчивости у изучаемого микроорганизма, превышающую 90 % исследуемых антибиотиков и одновременно чувствительности к наночастицам серебра косвенно свидетельствуют, что противомикробный механизм действия наночастиц серебра реализуется иными путями в сравнении с действием различных групп антибиотиков. Это в свою очередь подтверждает факт того, что наночастицы серебра являются достойной альтернативой антибактериальным препаратам, особенно в случае полиантибиотикорезистентных штаммов.

Выводы.

1. В ходе проведенных исследований было показано, что наночастицы серебра обладают выраженным антибактериальным действием по отношению к полиантибиотикорезистентной форме клинического штамма *Klebsiella pneumoniae*. Выполненные исследования показали, что минимальная ингибирующая концентрация наночастиц серебра по отношению к клиническим штаммам *Klebsiella pneumoniae* составляет 31,25 мкг/мл.

2. Механизм антибактериального действия наночастиц серебра в настоящее время до конца не установлен, по всей видимости он реализуется иными путями в сравнении с действием антибиотиков.

3. В связи с постоянным ростом высеваемости в процентном соотношении клинических штаммов полиантибиотикорезистентных форм *Klebsiella pneumoniae*, наночастицы металлов, в частности серебра, представляют собой эффективную альтернативу теряющим активность антибиотикам.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект М20Р-086) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 20-53-00030 Бел-а).

Литература

1. Xu, L. Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* / L. Xu, X. Sun, X. Ma // *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. – 2017. – Vol. 16, № 1. – P. 18.
2. Bassetti, M. Preventive and therapeutic strategies in critically ill patients with highly resistant bacteria / M. Bassetti [et al.] // *Intensive care medicine*. – 2015. – Vol. 41. – P. 776–795.
3. Active surveillance for asymptomatic carriers of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a hospital setting / C. Gagliotti [et al.] // *Journal of hospital infection*. – 2013. – Vol. 83, № 4. – P. 330–332.

АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ С ВРЕМЕННОЙ УТРАТОЙ ТРУДОСПОСОБНОСТИ СРЕДИ МЕДИЦИНСКИХ СОТРУДНИКОВ ГУЗ «ГОССМП»

Доста А.М., Харланцева Е.В., Марцулевич В.М.

ГУЗ «Гродненская областная станция скорой медицинской помощи», Беларусь

Актуальность. Неблагоприятные условия труда, уровень производственного травматизма и профессиональная заболеваемость работников системы здравоохранения – серьезная социально-экономическая проблема отрасли, влияющая на качество оказания медицинской помощи населению страны. Несмотря на комплекс государственных и ведомственных мер по улучшению условий труда медицинских работников, заболеваемость врачей, среднего медицинского персонала не имеет существенной положительной динамики и порой превышает соответствующий уровень у работников иных отраслей народного хозяйства [1, 2].

Анализ научной литературы показал, что при исследовании состояния здоровья медицинских работников изучение проводится преимущественно по показателям общей и первичной заболеваемости [3]. Что касается анализа заболеваемости с ВУТ, которая в значительной мере определяет прямые экономические затраты государства, то литературные данные об этом немногочисленны и неполны. Это диктует необходимость проведения новых исследований для обоснования профилактических мероприятий и уменьшения экономических затрат государства.

Цель. Изучение структуры заболеваемости с временной утратой трудоспособности (ВУТ) среди медицинских сотрудников ГУЗ «Гродненская областная станция скорой медицинской помощи» за 2020 год.

Материалы и методы исследования. Проведена оценка показателей заболеваемости с ВУТ по данным государственной статистической отчетности за 2020 год. Объектом исследования явились медицинские сотрудники ГУЗ «Гродненская областная станция скорой медицинской помощи».

Полученные данные вносились в специально созданную базу данных программы Microsoft Office Excel 2010 и обрабатывались в программе STATISTIKA 10.0.

Результаты. Количество случаев, дней временной нетрудоспособности среди медицинских сотрудников ГУЗ «ГОССМП» за 2020 год в абсолютных числах составило 810 случаев и 7774 дня (в расчете на 100 работающих – 155,5; 1492,13).

Средняя длительность одного случая: по заболеваниям и травмой в быту – 9,6.

Структура заболеваемости с временной утратой трудоспособности: болезни органов дыхания – 303 случая 2497 дней (58,16; 479,26; 32,12%); некоторые инфекционные и паразитарные заболевания – 205 случаев 2234 дня (39,45; 428,78; 28,74%); травмами, отравлениями и некоторыми другими последствия воздействиями внешних причин – 49 случаев 581 день (9,2; 111,52; 7,47%); освобождению от работы в связи с карантином – 70 случаев 561 день (13,5; 107,67; 7,22%); болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани – 48 случаев 558 дней (9,21; 107; 7,18%); по уходу за больным членом семьи – 62 случая 475 дней (11,8; 91,17; 6,11%); новообразования – 7 случаев 134 дня (1,34; 25,72; 1,72%); болезни системы кровообращения – 9 случаев 127 дней (1,73; 24,38; 1,63%); болезни мочеполовой системы – 17 случаев 126 дня (3,26; 24,18; 1,62%); болезни органов пищеварения – 11 случаев 112 дней (2; 21,5; 1,44%); болезни кожи и подкожной клетчатки – 8 случаев 98 дней (1,53; 18,81; 1,26%); психические расстройства и расстройства поведения – 5 случаев 92 дня (0,96; 17,66; 1,18%); болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм – 5 случаев 89 дней (0,96; 17,08; 1,14%); беременность, роды и послеродовой период – 6 случаев 52 дня (1,14; 9,98; 0,67%); болезни глаза и его придаточного аппарата – 3 случая 21 день (0,58; 4; 0,27%); болезни уха и сосцевидного отростка – 2 случая 17 дней (0,38; 3,33; 0,23%).

Заключение. Таким образом, в структуре заболеваний с временной утратой трудоспособности среди медицинских сотрудников ГУЗ «ГОССМП» за 2020 год лидирующее место занимают болезни органов дыхания и некоторые инфекционные и паразитарные болезни, что можно объяснить возникшей неблагоприятной обстановкой в нашей стране и мире по коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2.

Литература

1. Бойко, И.Б. О состоянии здоровья медицинских работников РФ /И. Б. Бойко, А. В. Сашин // Рос.мед.-биол. вестн. им. акад. И. П. Павлова. – 2008. – № 3. – С. 40-47.
2. Максимов, А.Л. Влияние факторов производственной среды на здоровье медицинских работников г. Владивостока / А. Л. Максимов, Г. А. Меркулова, А. А. Шепарев // Вестн. СВНЦ ДВО РАН. – 2011. – № 4. – С. 30-36.
3. Сорокина, М. Г. Образ жизни медицинских работников, проживающих в условиях агропромышленного района / М. Г. Сорокина, И. А. Камаев // Проблемы соц. гиг., здравоохран. и истории медицины. – 2005. – № 5. – С. 12-17.

КАТАЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТОК И ИММУНОГЛОБУЛИНОВ У ПАЦИЕНТОК С НОВООБРАЗОВАНИЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Жерулик С.В., Павлов Ю.А., Сушкова С.А.

Витебский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра клинической микробиологии
Кафедра онкологии с курсом ФПК и ПК

Актуальность. Рак молочной железы – одна из самых частых онкологических патологий. Уровень летальности при данном заболевании напрямую зависит от времени постановки диагноза. Соответственно, разработка новых методов его диагностики является по-прежнему актуальной.

В настоящее время активно изучаются особенности каталитической активности сыворотки и иммуноглобулинов (ИГ) классов А и G при различных заболеваниях, в том числе и онкологических. В предварительных исследованиях было установлено наличие абзимной и сывороточной ферментативной активности у пациенток со злокачественными новообразованиями молочной железы (ЗНО).

Цель. Провести комплексную сравнительную оценку протеолитической, нуклеазной и оксидоредуктазной активности сывороток и иммуноглобулинов классов G и A у пациенток с новообразованиями молочной железы и здоровых лиц.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования послужили сыворотки и выделенные из них иммуноглобулины 106 пациенток со ЗНО молочной железы, 40 пациенток с доброкачественными новообразованиями молочной железы (фиброаденома, очаговый фиброаденоматоз), находившихся на стационарном лечении в УЗ «Витебский областной клинический онкологический диспансер», и 36 здоровых лиц.

Кровь забирали натощак, в стерильные стеклянные пробирки без добавления гепарина. Сыворотку отделяли центрифугированием.

Выделение антител (АТ) производили комбинированным способом, основанном на высаливании сыворотки крови насыщенным раствором сульфата аммония с последующей доочисткой IgG на агарозе, конъюгированной с протеином А золотистого стафилококка, а затем на анионообменной DEAE-матрице. Для очистки IgA использовали агарозу, конъюгированную с антителами против IgA человека. Иммунохимическая чистота АТ была подтверждена методом иммунодиффузии по Оухтерлони. Контроль гомогенности фракций полученных ИГ проводили с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в системе буферов по Laemmli с использованием 5% стартового геля и 10% разделяющего геля в присутствии додецилсульфата натрия.

Оценку протеолитического действия АТ и сывороток выполняли фотометрически по гидролизу ряда синтетических субстратов-нитроанилидов,

специфичных к различным видам протеолитической активности (БАПНА, субстраты катепсина G, B, C, субстрат для нейтрофильной эластазы). ДНКазную активность оценивали методом предупреждения образования риванолового сгустка. Пероксидазную и каталазную активность изучали в реакции с пероксидом водорода (индикаторы тетраметилбензидин и молибдат аммония, соответственно).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программного обеспечения Statistica 10. Результаты выражали в значениях медианы и нижнего и верхнего квартилей.

Результаты. Статистически значимые различия между тремя исследуемыми группами были обнаружены при сравнении сывороточной протеолитической (активность в отношении субстратов катепсина B и G), каталазной и ДНКазной активностей.

Активность сыворотки крови в отношении субстрата катепсина G была статистически значимо выше в группах больных ЗНО и здоровых лиц, чем в группе больных доброкачественными новообразованиями молочной железы (0,151 (0,106; 0,191); 0,1345 (0,088; 0,176); 0,117 (0,088; 0,144), соответственно, $p=0,02$). Аналогичная тенденция обнаружена и в отношении субстрата катепсина B (0,419 (0,338; 0,498); 0,491 (0,277; 0,538); 0,384 (0,332; 0,480), соответственно, $p=0,017$).

Оксидоредуктазная (каталазная) сывороточная активность статистически значимо выше в группе пациентов с доброкачественными новообразованиями молочной железы, чем в группе пациентов со ЗНО молочной железы и у здоровых лиц (82,2% (44,7%; 89,4%); 62,2% (33,7%; 83,2%); 58,0% (47,9%; 83,7%), соответственно, $p=0,03$). ДНКазная активность, наоборот, статистически значимо выше в группе лиц со злокачественными опухолями, чем в группах с доброкачественной патологией и здоровых лиц (4,0 (2,5; 5,0); 2,5 (2,0; 5,0); 2,25 (1,5; 4,0), соответственно, $p=0,00008$).

При изучении абзимной активности ИГ классов G и A были получены следующие результаты.

Активность IgG в отношении субстрата катепсина G была статистически выше в группе доброкачественных новообразований, чем в группах ЗНО и здоровых лиц (0,019 (0,00; 0,099); 0,016 (0,003; 0,059); 0,001 (0,00; 0,0315), соответственно, $p=0,003$), а в отношении субстрата катепсина B – в группе здоровых лиц (0,013 (0,009; 0,019); 0,004 (0,001; 0,010); 0,007 (0,003; 0,014), соответственно, $p=0,0004$). Каталазная активность IgG и IgA статистически значимо выше в группах пациенток со злокачественными и доброкачественными новообразованиями молочных желез, чем у здоровых лиц (IgG: 25,87% (16,97%; 35,21%); 28,98% (13,71%; 41,84%); 19,61% (12,21%; 23,02%), соответственно, $p=0,01$; IgA: 40,04% (30,45%; 49,51%); 35,24% (22,72%; 47,18%); 22,49% (16,82%; 37,05%), соответственно, $p=0,04$).

Выводы. Обнаружены статистически значимые различия между показателями сывороточной ферментативной активности и абзимной активности пациенток, страдающих злокачественными и доброкачественными

новообразованиями молочной железы, и контрольной группы здоровых лиц.

При этом сывороточная активность катепсина G и B повышена у пациентов со ЗНО и у здоровых лиц в сравнении с группой пациентов с доброкачественными новообразованиями молочной железы. В группе пациентов со ЗНО также повышена ДНКазная сывороточная активность.

С другой стороны, у пациентов со злокачественными новообразованиями молочной железы снижается сывороточная активность каталазы.

Активность IgG в отношении субстрата катепсина G статистически значимо выше в группе лиц с доброкачественными новообразованиями молочной железы, а в отношении субстрата катепсина B – в группе здоровых лиц. У пациентов с опухолевой патологией молочной железы нарастает абзимная каталазная активность IgG и IgA.

Литература

1. Невинский Г.А., Каньшкова Т.Г., Бунева В.Н. Природные каталитически активные антитела (абзимы) в норме и при патологии. Биохимия 2000; 65 (11): 1245-1255.
2. Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля: пер.с нем. – М., 1987.

АКТИВНОСТЬ ЦЕФИДЕРОКОЛА И ДРУГИХ НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ В ОТНОШЕНИИ XDR-ШТАММОВ *KLEBSIELLA* *PNEUMONIAE*

Карпова Е.В., Тапальский Д.В.

Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Актуальность. Возникновение резистентности к антибактериальным препаратам является серьезной проблемой общественного здравоохранения во всем мире. Она наиболее актуальна для инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), вызванных грамотрицательными микроорганизмами [1]. Среди штаммов *K. pneumoniae*, вызывающих ИСМП, выделяют изоляты с множественной (MDR – multidrug resistance) и экстремальной (XDR – extensively drug resistance) антибиотикорезистентностью. Нечувствительность ко всем категориям антибиотиков для штаммов *K. pneumoniae* обозначается как панрезистентность (PDR – pandrug resistance) и представляет собой максимальный уровень устойчивости к антибиотикам [2]. Назначаемая эмпирическая антибиотикотерапия инфекций, вызванных XDR-штаммами *Klebsiella pneumoniae*, часто неадекватна, приводит к увеличению летальности. В настоящее время наибольшую тревогу вызывает устойчивость грамотрицательных бактерий к карбапенемам. Это связано с большим разнообразием карбапенемаз и прогрессирующим их глобальным распространением. Резистентность клебсиелл к карбапенемам как правило опосредована продукцией сериновых карбапенемаз OXA-48 и KPC, металло-β-лактамаз (MBL) NDM, IMP и VIM [2]. Карбапенемаза NDM способна

разрушать все β -лактамы антибиотики, за исключением монобактамов, что значительно затрудняет выбор потенциально эффективных антибактериальных препаратов.

Продукция XDR-штаммами *K. pneumoniae* β -лактамаз расширенного спектра и карбапенемаз различных типов привела к использованию полимиксинов (колистина) в качестве препарата «последнего резерва» для терапии у пациентов с тяжелыми состояниями. Однако, в настоящее время имеются данные о появлении колистинорезистентных штаммов *K. pneumoniae*[3]. Широкая распространенность MDR и XDR-штаммов энтеробактерий и крайне ограниченный спектр антибиотиков, активных в отношении данных микроорганизмов, требуют разработки новых антибактериальных препаратов. Цефидерокол, цефтазидим/авибактам, меропенем/ваборбактам, имипенем/релебактам и эравациклин являются недавно разработанными антибиотиками с активностью против устойчивых к карбапенемам штаммов *K. pneumoniae*.

Цель. Оценить чувствительность XDR-штаммов *K.pneumoniae* к цефидероколу, новым ингибиторзащищенным цефалоспорином и карбапенемам.

Материалы и методы. В исследование были включены 25 XDR-штаммов *K. pneumoniae*, выделенных в 2016-2020 гг. от госпитализированных пациентов в организациях здравоохранения Минска, Витебска, Гомеля и двух районных центров Гомельской области (Светлогорска и Жлобина). Микробиологические исследования проводились для пациентов, госпитализированных преимущественно в отделениях реанимации. Для всех штаммов *K.pneumoniae* методом ПЦР в реальном времени определялось присутствие генов сериновых карбапенемаз KPC и OXA-48, а также MBL NDM, VIM и IMP, использовали диагностические наборы «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL» и «АмплиСенс MDR MBL-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, Российская Федерация). Определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) семи антибиотиков (меропенема, имипенема, цефидерокола, цефтазидима/авибактама, меропенема/ваборбактама имипенема/релебактама, эравациклина) выполнено методом последовательных микроразведений в бульоне Мюллер-Хинтон (Oxoid, Великобритания) с использованием диагностической системы Sensititre (Thermo Fisher Scientific, США) на планшетах EUMDROXF в соответствии с инструкцией производителя. Из чашки с суточной культурой отбирали 3-5 колоний, суспендировали в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия, доводили оптическую плотность суспензии до 0,5 ед. Мак-Фарланд. Переносили 10 мкл приготовленной суспензии в пробирку, содержащую 11 мл бульона Мюллер-Хинтон. С использованием многоканальной пипетки вносили по 50 мкл инокулята в каждую лунку планшета, после чего герметизировали лунки адгезивной пленкой. Планшеты инкубировали в термостате при температуре 34-36 °С в течении 24 ч, учет результатов проводили с использованием камеры

визуального считывания Thermo V4007. Результаты чувствительности штаммов *K. pneumoniae* к антибиотикам интерпретировали на основании пограничных значений МПК, установленных Европейским комитетом по определению чувствительности к антимикробным лекарственным средствам EUCAST v.11.0.

Результаты. Продуцентами карбапенемазы ОХА-48 являлись 17 штаммов, КРС – 4 штамма, MBL NDM – 2 штамма, ко-продуцентом ОХА-48+MBL NDM – 1 штамм, еще 1 штамм являлся ко-продуцентом КРС и ОХА-48. У всех исследуемых штаммов выявлена устойчивость к меропенему (МПК >8 мг/л). Чувствительность к имипенему сохраняли только 3 штамма (МПК ≤2 мг/л). Показана высокая микробиологическая эффективность меропенема/ваборбактама и имипенема/релебактама в отношении штаммов, продуцирующих карбапенемазу КРС, отмечалось снижение МПК карбапенемов в присутствии ингибиторов в 8-128 раз. Однако, данный эффект не выявлялся в отношении штаммов, продуцирующих карбапенемазы ОХА-48 и MBLNDM, МПК карбапенемов в присутствии ингибиторов уменьшались для этих штаммов не более чем в 2 раза, либо вообще не изменялись.

Чувствительными к цефидероколу оказались 19 штаммов (76%). Вместе с тем, выявлены 6 устойчивых штаммов с МПК цефидерокола 8-16 мг/л. В соответствии с интерпретационными критериями EUCAST, пограничным значением МПК цефидерокола является 2 мг/л. Все штаммы, резистентные к цефидероколу, являлись продуцентами карбапенемазы ОХА-48 и были выделены в двух организациях здравоохранения: 5 штаммов – Витебская областная клиническая больница и 1 штамм – Светлогорская центральная районная больница. Все устойчивые к цефидероколу штаммы выделены из мокроты госпитализированных пациентов с инфекцией COVID-19.

Цефтазидим/авибактам был не активен только в отношении MBL NDM-продуцирующих штаммов *K.pneumoniae* (МПК ≥32 мг/л). Все штаммы – продуценты карбапенемазы КРС и 16 штаммов – продуцентов карбапенемазы ОХА-48 (89%) сохраняли чувствительность. Чувствительность эравациклину выявлена у 20 (80%) штаммов, устойчивыми к эравациклину (МПК ≥1 мг/л) являлись 3 штамма – продуцента ОХА-48 и 2 штамма – продуцента КРС. Все штаммы, продуцирующие MBL NDM, были чувствительны к эравациклину (МПК₅₀ 0,25 мг/л, МПК₉₀ – 0,5 мг/л).

Выводы. Показана высокая активность цефидерокола, эравациклина, а также новых ингибиторзащищенных бета-лактамов в отношении XDR-штаммов *K.pneumoniae*. Выявлены отдельные штаммы с устойчивостью к цефидероколу (МПК 8-16 мг/л). Цефтазидим/авибактам активен в отношении продуцентов карбапенемаз ОХА-48 и КРС, ингибиторзащищенные карбапенемы – в отношении продуцентов карбапенемазы КРС. Устойчивость к эравациклину не связана с типом продуцируемых карбапенемаз.

Литература

1. Чеботарь, И.В. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном / И. В. Чеботарь [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2020. – Т. 22, № 1. – С. 4–19.
2. Тапальский, Д.В. Металло-бета-лактамазы и карбапенемазы экстремально-

антибиотикорезистентных энтеробактерий: распространение в Беларуси / Д. В. Тапальский [и др.] // Здоровоохранение. – 2017. – № 3. – С. 40–47.

3. Emergent polymyxin resistance: end of an era? / Z. Li [et al.] // Open Forum Infectious Diseases. – 2019. – Vol. 6, № 10. – P. Ofz368.

СТАБИЛИЗАЦИЯ ПРИСТЕНОЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ АМИНОЗОЛЕМ В УСЛОВИЯХ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ

Николаева И.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга

Актуальность. Антибиотики используются для лечения и профилактики широкого спектра, потенциально опасных для жизни бактериальных инфекций. В последние годы исследования микробиома показали, что чрезмерное использование, длительное использование, неправильное использование и иные свойства многих антибиотиков могут привести к непредвиденным и нежелательным последствиям. Последствия включают устойчивость к антибиотикам, доминирование в кишечнике патогенных бактерий, временную или глубокую утрату микробного разнообразия, потерю количества видов микробов, повышенную и длительную восприимчивость к инфекции и риск повторного инфицирования. Нарушения состава и активности микробиома кишечника может способствовать возникновению множества состояний во всем организме, включая воспаление, воздействие на мышечную массу, депрессию и артериальное давление у пожилых людей, нарушение иммунной и эндокринной системы, усиление аллергических реакций, а также поведенческие и нейрохимические реакции. Нарушения обычно стабильной метаболической активности микробиома могут способствовать ожирению и метаболическим заболеваниям из-за нарушения регуляции метаболизма липидов и углеводов [1].

Метронидазол характеризуется высокой растворимостью и проницаемостью, быстро и полностью всасывается в тонком кишечнике. В клинической практике широко используется при тяжелых формах анаэробной или смешанной аэробно-анаэробной инфекциях, при инфекции центральной нервной системы. При попадании в желудочно-кишечный тракт важно учитывать всасывание антибиотика в кишечнике. Абсорбция в кишечнике зависит от нескольких факторов, включая структуру и целостность кишечной мембраны, задействованные транспортные механизмы и специфические свойства антибиотика. Легко всасываемые антибиотики приводят к более низкой конечной концентрации в просвете кишечника, уменьшая воздействие на микробиоту. Так, метронидазол, вводимый перорально, почти полностью всасывается в тонком кишечнике, и в результате кишечные концентрации метронидазола значительно снижаются вдоль желудочно-кишечного тракта, при этом минимальные количества достигают толстой кишки. Разные

антибиотики, попавшие в кишечник, по-разному влияют на плотность и разнообразие микробиоты. В экспериментах на мышах доказано, что используемый для эрадикации *C. difficile*, метронидазол, преимущественно поражает анаэробные бактерии. При этом общая бактериальная плотность микробиоты мышей, получавших метронидазол не было снижена. Мыши, получавшие метронидазол, испытали только относительно временное нарушение состава их микробиоты, которая восстанавливалась до исходного состава в течение 1-2 недель. Расширение бактериальных популяций во время раннего восстановления микробиоты варьировало в разных исследованиях и в значительной степени зависело от исходных комменсальных бактерий. Кроме того, время, в течение которого антибиотик уменьшал разнообразие микробиоты, коррелировало с периодом восприимчивости к кишечной колонизации различными внутрибольничными патогенами.

Достигнув кишечника, действие антибиотика на композицию зависит от того, на каких представителей микробиоты он воздействует. Спектр активности антибиотика также может играть важную роль, в зависимости от которой патогенные бактерии могут, колонизировать и разрастаться в кишечнике. Например, лечение метронидазолом приводит к трехкратному увеличению риска кишечного энтерококкового разрастания. Метронидазол имеет узкую мишень – облигатные анаэробы, и, следовательно, устойчивые к кислороду виды энтерококков сохраняются [2].

Ранее экспериментально показано, что аминокислотно-микроэлементная композиция, состоящая из триптофана, таурина, аргинина и цинка сульфата, воздействует на параметры неспецифического клеточного иммунитета, оказывает выраженное воздействие на метаболизм в клетках иммунной системы, локализованных в различных органах-мишенях и имеющих специфическое функциональное предназначение [3].

Цель. Изучение возможности коррекции дисбиотических изменений пристеночного микробиоценоза толстого кишечника, вызванного курсовым введением метронидазола, одновременным введением аминокислоты

Материалы и методы исследования. Эксперименты были выполнены на белых беспородных крысах-самцах массой 120-180 г. Животные получали: контрольная (n=6) – энтерально 0,95% раствор хлорида натрия; вторая группа (n=7) – метронидазол 70 мг/кг массы тела третья группа (n=7) – метронидазол и тритарг (500 мг/кг) – внутривентрикулярно в течение 10 дней. Через 24 ч после последнего введения животных декапитировали, асептически вскрывали брюшную полость. Образцы толстого кишечника собирали в стерильные флакончики, в которых они немедленно доставлялись в бактериологическую лабораторию для исследования пристеночной микробиоты по стандартной методике. Статистически значимыми считали различия между контрольной и опытной группами при значениях $p < 0,05$.

Результаты. Курсовое внутривентрикулярное введение метронидазола в течение 10 дней вызывает дисбиотические изменения пристеночной микрофлоры толстого кишечника, которые характеризуются, повышением

численности аэробной флоры (на 30%), за счет увеличения количества лактозанегативных энтеробактерий (в 1,9 раза), эшерихий с нормальной ферментативной активностью (в 2,1 раза). У 100 % животных регистрировали наличие *Proteus vulgaris* в титре 10^5 , тогда как в контрольной группе данные микроорганизмы не были выявлены. Следует отметить, что внутрижелудочное введение метронидазола приводит к обеднению популяции молочнокислых бактерий: бифидобактерий, лактобактерий (на 12%), повышая содержание общего числа банальных анаэробов (на 11%), в сравнении с контрольной группой. Изменяется соотношение между основными популяциями микроорганизмов: наблюдается обеднение популяции бифидобактерий (47% против 59%, соответственно) на фоне увеличения аэробных условно-патогенных лактозанегативных микроорганизмов (35% против 21% в контроле).

При одновременном внутрижелудочном введении метронидазола и аминозоля выявлено снижение численности аэробов (на 14%, в сравнении с группой животных получавших метронидазол), за счет угнетения определяемых нами популяций лактозанегативных энтеробактерий (эшерихий со сниженной ферментативной). На 30% снижается частота высева *Proteus vulgaris* и в более низком титре 10^3 . Используемая нами композиция препятствует увеличению под действием метронидазола общего числа банальных анаэробов, при одновременном повышении численности бифидобактерий (на 9%).

Выводы. Таким образом, проведенное нами исследование показало, что курсовое 10-дневное энтеральное введение одного метронидазола приводит к микробному дисбалансу в пристеночной микрофлоре толстого кишечника, который характеризуется угнетением активности индигенного анаэробного компонента нормофлоры и ростом титра аэробных условно-патогенных энтеробактерий. Кроме того, на фоне снижения численности бифидобактерий наблюдается рост популяции банальных анаэробов. Предлагаемый нами способ одновременного введения метронидазола и аминокислотно-микроэлементной композиции позволяет оказать стабилизирующее действие на микробиоту толстого кишечника.

Литература

1. Кира Е.Ф., Пекарев О.Г., Молчанов О.Л. и др. Сравнительный анализ эффективности и безопасности параллельного или последовательного сочетания метронидазола с молочной кислотой и двухэтапного метода метронидазол плюс пробиотик. Многоцентровое рандомизированное контролируемое исследование. Акушерство и гинекология. – 2016 – № 9. – С. 87 – 93.
2. Leitsch, D. [A review on metronidazole: an old warhorse in antimicrobial chemotherapy](#) // Parasitology. – 2019. - V.146, N9. – P.1167-1178
3. Шейбак, В.М. Метаболическая активность лимфоцитов при введении биологически активных веществ и ксенобиотиков / В.М. Шейбак, А.Ю. Павлюковец // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2012. – № 4. – С. 37– 43.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА И МИКРОБИОТА ВВЕДЕНИИ АЦЕТАМИНОФЕНА

Николаева И.В., Островская О.Б., Шейбак В.М.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь

Актуальность. Ацетаминофен является широко используемым обезболивающим и жаропонижающим препаратом. После всасывания в кишечнике ацетаминофен метаболизируется в гепатоцитах в токсичный метаболит N-ацетил-п-бензохинонимин (NAPQI), который вызывает дисфункцию митохондрий, окислительный стресс и, в конечном итоге, гибель гепатоцитов. Тяжелая гепатотоксичность, возникающая при приеме чрезмерных доз (более 150 мг / кг), является основной причиной острой печеночной недостаточности [1]. В последние годы взаимодействие между печенью и кишечником, называемое «осью кишечник-печень», стало областью интенсивной исследовательской деятельности в отношении нормальной физиологии и заболеваний. Недавние исследования показали, что дисбиоз кишечника и потеря целостности кишечного барьера связаны с транслокацией ассоциированных с микробиотой молекулярных структур, таких как липополисахарид, через воротную вену в печень, где они вызывают воспаление через рецепторы распознавания патогенов [2]. Кроме того, микробиом кишечника может изменить метаболический исход фармацевтических препаратов, токсичных веществ из окружающей среды и тяжелых металлов, тем самым изменяя их фармакокинетику. Прямая химическая модификация ксенобиотиков микробиомом кишечника либо через кишечник, либо повторно поступая в кишечник через энтерогепатическую циркуляцию, может привести к усилению метаболизма или биоактивации, в зависимости от ферментативной активности в микрофлоры[3].

Целью работы явилась оценка характера морфологических и микробиологических изменений в кишечнике при введении животным гепатотоксической дозы ацетаминофена.

Материалы и методы. Эксперименты были выполнены на 24 белых крысах-самцах массой 180-200 г, которые находились на стандартном рационе вивария: 1-я – контрольная группа (n=12) – получала 2% слизь крахмала в желудок, 2-я группа – получала 5-кратно, через день ацетаминофен (Sigma) в дозе 1500 мг/кг массы тела внутривентрикулярно, в 2% растворе крахмала. После декапитации белых-беспородных крыс массой 140-160г, асептически вскрывали брюшную полость брали содержимое толстого кишечника для микробиологического исследования, выделяли микробно-тканевый комплекс толстого кишечника для идентификации свободных аминокислот и их производных методом методом ВЖЭХ с помощью хроматографической системы Agilent 1100, прием и обработку данных – с помощью программы Agilent ChemStation A10.01. Для электронно-микроскопического исследования брали образцы стенки восходящей части ободочной кишки размером около

1 x 2 мм фиксировали 1% раствором четырехоксида осмия при +4°C pH 7,4 в течение 2 часов, обезвоживали и заливали в аралдитную смолу. Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме Leica EM UC7 (Germany), контрастировали 2% раствором уранилацетата и цитратом свинца по E.S. Reynolds. Препараты изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Japan). Для получения снимков использовался комплекс из цифровой камеры Olympus Mega View III (Japan) и программы iTEM (Version 5.0 (Build 1224); SerialNumber A3766900-7E852FAB).

Полученные результаты анализировали с использованием непараметрической статистики по Манну–Уитни (программа Statistica 6.0 для Windows). В описательной статистике для каждого показателя определяли значение Me, 25 и 75 квартилей. Статистически значимыми считали различия между контрольной и опытной группами при значениях $p < 0,05$.

Результаты. Энтеральное поступление в организм ацетаминофена в дозе 1,5 г/кг, 1 раз в день через день – 5 доз) оказывает влияние на просветную микрофлору толстого кишечника, которое характеризуется снижением в фекалиях численности анаэробов, молочнокислых бактерий: бифидобактерий, лактобактерий, повышая содержание банальных анаэробов (клостридий). У 50% животных регистрировали наличие *Proteus vulgaris* в высоких разведениях ($7,4 \pm 0,2$), тогда как в контрольной группе данные микроорганизмы были выявлены только у одного животного в разведении 10^3 . Число эшерихий и других аэробных бактерий достоверно не изменялось, однако изменяются соотношения между основными популяциями микроорганизмов: наблюдается обеднение популяции лактобактерий на 21%, на фоне трехкратного увеличения аэробных микроорганизмов ($p=0,003$), включая эшерихии с нормальной ферментативной активностью и условно-патогенные лактозонегативные энтеробактерии.

Данные электронно-микроскопического исследования у животных получавших ацетаминофен в дозе 1,5 мг/кг массы в вызывает изменения в структуре слизистой восходящей ободочной кишки по сравнению с контрольными животными. Так, на отдельных непротяженных участках поверхностного эпителия наблюдалось снижение высоты и разрежение микроворсинок щеточной каемки столбчатых энтероцитов, в остальном ультраструктура данных клеток существенно не отличалась от контрольной. Повсеместно отмечалось неравномерное наполнение секретом бокаловидных клеток с малой наполненностью большинства из них, нередко в бокаловидных клетках наблюдалась гипертрофия ГрЭР. Это свидетельствует о стимуляции выработки слизистого секрета наряду с усилением его выброса из клеток. В единичных каемчатых энтероцитах крипт присутствовали крупные фагосомы, содержащие разрушенные митохондрии и электронно-плотный материал, что является результатом фагоцитоза эпителиоцитами апоптозных телец, возникающих при гибели соседних клеток. Также в эпителии чаще, чем в контроле, встречались лимфоциты, а в соединительной ткани собственной пластинки отмечалось усиление инфильтрации плазмócитами и лимфоцитами,

встречались активированные макрофаги, содержащие множество лизосом и вторичных фагосом.

Проведенный нами анализ общего содержания свободных аминокислот и их азот-содержащих производных в микробно-тканевом комплексе показал, что курсовое введение ацетаминофена существенно повышает уровни: треонина (в 2,8 раза, $p=0,04$), тирозина (в 1,9 раза, $p=0,003$), валина (в 2,1 раза, $p=0,002$), метионина (в 2,3 раза, $p=0,001$), изолейцина (в 3,0 раза, $p=0,002$), фенилаланина (в 2 раза, $p=0,003$), лейцина (в 2,2 раза, $p=0,003$), лизина (в 2 раза, $p=0,006$), глутамата (в 1,7 раза, $p=0,006$), глутамина (в 1,5 раза, $p=0,03$), аргинина (в 2,6 раза, $p=0,003$), серина (в 1,7 раза, $p=0,005$), глицина (в 1,5 раза, $p=0,005$), аланина (в 2,0 раза, $p=0,002$), таурина (на 1,2 раза, $p=0,02$), цитрулина (на 1,6 раза, $p=0,02$), орнитина (в 3,9 раза, $p=0,008$), гидроксизина (в 1,3 раза, $p=0,006$), 1-метилгистидина (в 3,3 раза, $p=0,004$), α -аминомасляной кислоты (в 3,1 раза, $p=0,03$) при одновременном снижении концентрации (цистеиновой кислоты (в 2,2 раза, $p=0,001$)).

Выводы. Введение гепатоксической дозы ацетаминофена по описанной схеме активирует аминокислотно-белковый обмен в микробно-тканевом комплексе толстого кишечника, что проявляется существенным повышением суммарного количества незаменимых (в 2,1 раза, $p=0,003$) и заменимых аминокислот (на 1,6 раза, $p=0,002$).

Изменение аминокислотного фонда, под действием ацетаминофена, отражается на формировании микробиоценоза толстого кишечника. Несмотря на незначительное изменение титра снижается общее микробное число на 55% ($p=0,002$) в сравнении с контрольной группой. Изменяется соотношение между основными популяциями микроорганизмов: наблюдается обеднение популяции лактобактерий, на фоне трехкратного увеличения аэробных микроорганизмов, включая эшерихии с нормальной ферментативной активностью и условно-патогенные лактозонегативные энтеробактерии.

Анализ электронно-микроскопических препаратов толстого кишечника показал, что энтеральное поступление ацетаминофена вызывает усиление образования и выделения слизи бокаловидными клетками, частичную атрофию щеточной каемки столбчатых энтероцитов, стимуляцию апоптозной гибели эпителиальных клеток и воспалительную реакцию в слизистой оболочке восходящей ободочной кишки.

Литература

1. Schneider K M Intestinal Dysbiosis Amplifies Acetaminophen-Induced Acute Liver Injury/ K M Schneider et all // Cell Mol Gastroenterol Hepatol. – 2021 – Vol. 11 – № 4. – P. 909–933.
2. Gong Sh. Gut microbiota mediates diurnal variation of acetaminophen induced acute liver injury in mice / Sh. Gong et all // J. Hepatol. – 2018 – Vol. 69 . – № 1. – P. 51–59.
3. Collins S.L., Patterson A.D. The gut microbiome: an orchestrator of xenobiotic metabolism //Acta Pharm Sin B. 2020 – Vol. 10. – № 1. – P. 19–32.

HELICOBACTER PYLORI В ПОПУЛЯЦИИ В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД

Обаиди Ясин Али Абдулла¹, Кузнецов О.Е.^{1, 2}

¹Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Беларусь
Кафедра биохимии

²Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга

Актуальность. *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) играет значимую роль в патогенезе хронического гастрита и язвенной болезни, которая описана австралийскими учеными В.Marshall и I.Warren [1]. Значимым является контактный механизм передачи инфекции. В настоящее время получены четкие доказательства ятрогенной передачи *H. pylori* от пациента к пациенту через медицинские инструменты (при инструментальном исследовании желудка и двенадцатиперстной кишки) [2].

Группа риска – семьи *H.pylori* – позитивных пациентов, медицинский персонал гастроэнтерологических клиник, контингенты специальных учреждений, психиатрических стационаров, детских домов. Характер питания также влияет на инфицированность *H.pylori*. У вегетарианцев *H.pylori* обнаруживается реже, чем у людей, употребляющих мясную пищу. В целом, около 60% населения планеты инфицировано *H.pylori* или находятся в группе риска. Распространенность этой инфекции тесно связана с социально-экономическим развитием. В развивающихся странах *H.pylori* выявляется с высокой частотой уже в детском возрасте (до 90%), а к 30 годам жизни инфицировано практически 100% населения. В развитых странах среди детей *H.pylori* встречается в 5-15% случаев, у взрослых в 20-65% [3].

Инфицирование чаще всего происходит в детском возрасте, при этом имеет место так называемый эффект «возрастных когорт» – риск заражения *H.pylori* у людей из поколения в поколение, достаточно сильно изменяется. Существует мнение, что на частоту инфицированности населения *H.pylori* влияют этнические особенности: в латинской Америке инфицированность чернокожих граждан 76%, среди европейцев – 26%. В популяции жителей Папуа Новая Гвинея: у жителей побережья антитела к *H.pylori* выявлены в 2% случаев, а у жителей горной части – в 20%. У детей Турции и детей выходцев из Турции, родившихся в Германии, обсемененность *H.pylori* практически не различается (72% и 64% соответственно) и выше, чем у сверстников – этнических немцев.

Цель. Оценить распространенность носительства *H.pylori* в популяции населения региона в современный период.

Материалы и методы исследования. В исследовании приняли участие взрослые и дети, проживающие на территории Гродненского региона. В ходе исследования обследовано 280 человек (140 детей, в возрасте 6-12 лет; 140 взрослых, в возрасте от 23 до 33 лет). Стандартными способами были получены образцы сыворотки крови и слюны. В слюне, при помощи

полимеразной цепной реакции (ПЦР) определяли наличие ДНК *Helicobacter pylori* (тест системы «Амплисенс», Россия). В сыворотке крови, при помощи метода иммуноферментного анализа (ИФА) определяли уровень антител к *H. pylori* классов иммуноглобулина А, М и G (тест-системы «DRGInternational», США): референтный предел концентрации – 20 ЕД/мл. Основная группа n=140 (70 детей и 70 взрослых). Критерии включения в основную группу: постоянное проживание на территории Беларуси, наличие информированного согласия на проведение обследования, наличие диагноза хронический гастрит (гастродуоденит) и/или язвенная болезнь желудка (12-перстной кишки) вне обострения. Всем пациентам с диагностической целью выполнено фиброгастродуоденоскопическое исследование. Критерии исключения из основной группы: вегетарианство, неудовлетворительные социально-экономические условия жизни. Контрольная группа: n=140 (70 детей и 70 взрослых). Критерии включения в группу сравнения: постоянное проживание на территории, наличие информированного согласия на проведение обследования, отсутствие в анамнезе подтвержденного диагноза хронический гастрит и/или язвенная болезнь желудка. Полученные результаты обрабатывались с помощью пакета прикладных статистических программ Statistica.

Результаты. Проведенные исследования позволили установить, что в контрольной группе у взрослого населения в слюне ДНК *Helicobacter pylori* выявляется достоверно чаще ($p < 0,04$), чем у детей (таблица 1). В основной группе обследованных доля положительных результатов ПЦР – исследования (слюна, ДНК *Helicobacter pylori*) не зависела от возраста. Различия по этому показателю между основной группой и группой сравнения (контроль) взрослого населения, статистически недостоверны, среди детей – $p = 0,01$.

Таблица 1. – Результаты исследования образцов слюны и сыворотки крови в контрольной и исследуемой группе, метод ПЦР и ИФА

Показатель / биологический материал	Основная группа		Группа сравнения (контроль)		P
	дети ¹	взрослые ²	дети ³	взрослые ⁴	
ДНК <i>Helicobacter pylori</i> (слюна)	5,7%	12,8%	1,42%	8,6%	$p_{3-4} < 0,04$ $p_{2-4} = 0,06$ $p_{1-3} = 0,01$
Антитела к <i>Helicobacter pylori</i> (сыворотка крови), ≥ 20 ЕД/мл	дети ⁵	взрослые ⁶	дети ⁷	взрослые ⁷	
Иммуноглобулин А (Ig A)	3,7%	14,1%	-	8,8%	
Иммуноглобулин М (IgM)	8,0%	19,9%	-	13,3%	
Иммуноглобулин G (IgG)	22,8%	37,1%	-	11,4%	$p_{5,6} < 0,03$, $p_7 > 0,05$, $p_5 = 0,01$, $p_6 = 0,02$

Как видно из таблицы, распределение в исследуемых группах лиц с высоким уровнем антител иммуноглобулина класса А и иммуноглобулина

класса М к *H.pylori* соответствует распределению положительных результатов ДНК тестирования методом ПЦР-анализа. Наряду с этим как у детей, так и у взрослых основной группы достоверно повышенная концентрация иммуноглобулина класса G ($p < 0,03$), в сравнении с иммуноглобулинами классов А и М. У взрослого населения контрольной группы высокий уровень титра антител иммуноглобулина G к *H.pylori* определяется с такой же частотой, как и иммуноглобулины других классов ($p > 0,05$).

Таким образом, соответствие результатов выделения ДНК *Helicobacter pylori* в слюне и высокого уровня короткоживущих антител иммуноглобулина А и иммуноглобулина М, позволяет утверждать об адекватности использованных лабораторных методов исследования для оценки распространенности инфицирования. Полимеразная цепная реакция и определение иммуноглобулинов А и М позволяют получить объективную информацию об инфицированности населения *Helicobacter pylori* в данный период (ограниченный днями, неделями). Определение титра антител иммуноглобулинов класса G к *Helicobacter pylori*, имеющих период полувыведения около одного месяца, позволяет оценить «историю» инфицирования. Полученный результат закономерен: высокая концентрация антихеликобактерных антител класса G существенно чаще выявляется у лиц, относящихся к группе высокого риска инфицирования *Helicobacter pylori*, и свидетельствует о неблагоприятных санитарно-гигиенических условиях.

Выводы

1. Инфицированность *Helicobacter pylori* среди населения, не относящихся к группе риска, достоверно зависит от возраста: дети в возрасте 6-12 лет – 1,4%, взрослые в возрасте 23-33 года – 8,6-13,3%. Полученные результаты сопоставимы с литературными данными об уровне инфицированности в развитых странах.

2. Более трети взрослых и каждый четвертый ребенок, страдающие хроническими гастритами (гастродуоденитами) и/или язвенной болезнью желудка (12-перстной кишки) периодически инфицируются *Helicobacter pylori*, причем у 3,7-8,0% детей и 12,8-19,9% взрослых бактерии сохраняются в организме и в период ремиссии. Это необходимо учитывать при составлении плана диагностических и лечебно-профилактических мероприятий в процессе диспансеризации больных с данной патологией.

Литература

1. Кузнецов, О. Е. Распространенность инфицирования *Helicobacter pylori* в Гродненской области / О.Е. Кузнецов, С.А. Ляликов, Н.И. Плисюк, О.Н. Бородавко, Т.Э. Янулевич, Т.Д. Орехова // ARS MEDICA. Искусство медицины. – 2010. – № 4 (24). – С. 100-103.

2. Пиманов С. И. Современные принципы антихеликобактерной терапии у больных язвенной болезнью и хроническим гастритом // Медицинские новости, – 2000. – № 3. – С. 4-6.

3. Leung W. et all. Isolation of *Helicobacter pylori* from vomitus in children // Gastroenterology, 1998. – Vol. 114 (abstract).

ПРОБИОТИКИ КАК ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ И ВСПОМОГАТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Островцова С.А.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга

Роль вирусных респираторных инфекций в росте заболеваемости и даже смертности населения нашей Планеты трудно переоценить. Ежегодные эпидемии гриппа и других респираторных заболеваний, а также развитие самых разных серьезных осложнений приводят к временной потере трудоспособности, ухудшению состояния здоровья людей, а во многих случаях – к развитию хронических заболеваний.

Острые респираторные вирусные инфекции лидируют во всем мире по показателям детской заболеваемости и смертности, кроме того, они являются основной причиной развития осложнений среди пожилых и пациентов с иммунодефицитами разной степени выраженности. Респираторные вирусы быстро распространяются в человеческой популяции вследствие аэрогенного механизма передачи, вызывая вспышки заболеваний, которые сложно контролировать.

Несмотря на доступность эффективных противовирусных препаратов, которые применяются в терапии широкого спектра вирусных инфекций, постоянное появление абсолютно новых высококонтагиозных мутантных штаммов становится серьезной угрозой для всего населения Земли. Для лечения многих вирусных заболеваний довольно успешно применяется комбинированный подход, который включает, помимо основного терапевтического препарата, дополнительные лекарственные и профилактические средства [7]. В качестве одной из таких стратегий может быть выбрано использование пробиотиков в качестве адъювантных средств в профилактике и терапии респираторных вирусных инфекций. Данные исследований аддитивного действия пробиотиков на эффективность вакцинации людей пока недостаточно систематизированы и неоднозначны. Однако, полученные недавно результаты мета-анализа, оценивающего эффективность применения пробиотических добавок, содержащих *L. casei*, одновременно с вакцинацией против штаммов вируса гриппа H1N1, H3N2 и В у взрослых людей, свидетельствуют о значительном улучшении показателей гуморального иммунитета: в группе испытуемых выявлены более высокие титры вирус-специфических антител [6].

Известно также, что многие штаммы пробиотических бактерий способны проявлять противовирусную активность, как путем непосредственного взаимодействия микроорганизма-пробиотика с вирусом: в том случае, когда он конкурирует с вирусными частицами за центры связывания и нарушает адсорбцию вирусов на рецепторах клетки-хозяина, так и путем продукции

метаболитов, обладающих способностью подавлять активность вируса и одновременно стимулировать иммунную систему человека [9]. Обладая специфическим уникальным профилем патоген-ассоциированных молекулярных структур (PAMP от англ. pathogen-associated molecular patterns), вирусы способны стимулировать формирование специфического иммунного ответа в организме человека: связывание вируса на рецепторах распознавания образов (PRR от англ. pattern recognition receptors) во входных воротах инфекции приводит к экспрессии синтеза цитокинов, хемокинов и других ко-стимулирующих молекул, направленных на элиминацию патогена, активацию антигенпрезентирующих клеток и формирование специфического иммунитета [9].

Пробиотические штаммы могут также косвенно воздействовать на вирус, изменяя состояние клеток макроорганизма, стимулируя врожденный и адаптивный иммунитет, путем регуляции молекулярных сигнальных путей, например, с вовлечением Toll-подобных рецепторов (TLR от англ. Toll-like receptor) [7, 8]. Обнаружено, например, регуляторное действие пробиотиков на экспрессию TLR: в частности, показано, что триптрофан, один из метаболитов пробиотических бактерий, способен снижать процессы воспаления, сводя к минимуму экспрессию TLR4, а также активировать защитную функцию клеток эпителия, блокируя ядерный фактор транскрипции «каппа-би» (NF-kb от англ. Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), который играет решающую роль в иммунитете, воспалении и пролиферации клеток [9]. Вторичные желчные кислоты, секретируемые бактериями – представителями нормальной микрофлоры организма человека, также могут играть роль иммуномодулирующих сигналов: связываясь с рецепторами на макрофагах, они способны активировать их метаболизм и модулировать функциональную активность. Под действием микроорганизмов-пробиотиков стимулируются функции врожденного иммунитета, в частности, повышение фагоцитарной активности лейкоцитов и микробицидности нейтрофилов [11].

Роль кишечной микробиоты в поддержании нормального функционирования легких уже не вызывает сомнений. Это взаимодействие осуществляется с вовлечением лимфатической системы кишечника. Уже четко доказано существование так называемой “оси кишечник – легкие”: непосредственной двунаправленной взаимосвязи между микробиотой кишечника и легкими, которая, с одной стороны, опосредует процессы проникновения микробных метаболитов в легкие через кровяное русло, с другой – воспалительные процессы, происходящие в легких, оказывают воздействие на кишечную микрофлору. Кроме того, на альвеолярных макрофагах в опытах *in vitro* продемонстрирована противовирусная активность пробиотических бактерий в клетках респираторного тракта, опосредованная индукцией синтеза оксида азота, а в лабораторных экспериментах на мышах показано, что один из штаммов лактобактерий, *L. plantarum* DK119, способен предотвратить развитие тяжелой инфекции, вызванной вирусом гриппа типа А посредством модуляции активности альвеолярных макрофагов и дендритных клеток [2]. В опытах, проведенных в Финляндии на добровольцах, солдатах-

новобранцах, выявлено, что использование в качестве препарата-пробиотика штаммов лактобацилл, *Lactobacillus rhamnosus* GG, и бифидобактерий, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12, приводит к резкому снижению заболеваемости, вызванной респираторным пикорнавирусом [5].

Пандемия, связанная с появлением и циркуляцией нового высокопатогенного коронавируса, возбудителя тяжелого острого респираторного синдрома, SARS-CoV-2 (от англ. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), стала глобальной угрозой для человечества и внесла радикальные изменения в современные представления об инфекционных заболеваниях. Неуклонный рост числа тяжелобольных пациентов по всему миру, появление новых более трансмиссивных и агрессивных штаммов патогена требует огромных инвестиций в инфраструктуру здравоохранения и фармацевтическую индустрию. Потребности системы здравоохранения в дополнительных эффективных средствах профилактики с целью снижения частоты тяжелых случаев короновирусной инфекции стимулируют научные исследования, направленные и на изучение пробиотиков. Ведется постоянный поиск новых штаммов пробиотической микрофлоры, а уже известные штаммы модифицируются с применением методов геной инженерии: переноса в клетки уже известных бактерий-пробиотиков мобильных генетических элементов, внедрение которых в геном позволяет расширить функциональные возможности препарата [1, 8]. Позитивные эффекты препаратов-пробиотиков активно изучаются как с целью профилактики, так и в качестве дополнительного средства терапии тяжелого острого респираторного синдрома, вызванного вирусом SARS-CoV-2 [10].

Поскольку наиболее серьезные клинические проявления инфекции COVID-19 регистрируются у пожилых и лиц с иммуносупрессиями, предполагается, что нормализация иммунитета с помощью пробиотических препаратов может стать вкладом в профилактику данной инфекции и поможет снизить частоту тяжелых случаев заболевания. Обнаружена способность пробиотиков участвовать в реакциях ингибирования цитокинового шторма с одновременной стимуляцией естественного иммунитета и подавлением патологических реакций гиперактивации специфического иммунитета, что может позволить предотвращать, либо снижать тяжесть острого респираторного дистресс-синдрома [3, 8]. Нарушения барьерной функции кишечника, связанные с проникновением вируса, а также проведение в ряде случаев антибиотикотерапии делают пробиотики ценным инструментом, дополняющим этиотропную терапию у пациентов с COVID-19. Так в одном из опубликованных материалов, описывающих результаты использования пробиотиков для лечения пациентов с III стадией COVID-19, госпитализированных в стационар, показано, что у тех пациентов, которые наряду со стандартной терапией получали смесь из восьми пробиотических штаммов значительно эффективнее снижалась симптоматика COVID-19-ассоциированной диареи [4].

Таким образом, понимание и использование плейотропного механизма

воздействия микробиоты на человеческий организм, включающего противовоспалительные, противовирусные, иммуномодулирующие и даже антиоксидантные эффекты, может рассматриваться в качестве альтернативных профилактических и, возможно, даже вспомогательных методов терапии. Безусловно, препараты пробиотических микроорганизмов не могут быть использованы в качестве ведущих терапевтических средств в лечении респираторных вирусных инфекций, однако, применение их может оказывать положительный эффект посредством нормализации функции иммунной системы, что, в свою очередь, позволит облегчить симптоматику заболевания и снизить его продолжительность.

Тем не менее, на лечебно-профилактический потенциал пробиотиков влияет целый ряд факторов, таких как высокая ферментативная активность кишечной микрофлоры, разнообразный микробный состав препаратов, режим дозирования, качественный и количественный состав микробиоты пациентов и многие другие. В связи с этим необходимы дополнительные клинические исследования, выполненные на больших выборках больных с тем, чтобы окончательно выяснить роль коррекций микробиома на здоровье человека, а также окончательно убедиться в эффективности и безопасности пробиотических препаратов прежде, чем рекомендовать их для применения в клинике.

Литература

1. Aggarwal, N. Engineering probiotics for therapeutic applications: Recent examples and translational outlook/ N. Aggarwal [et al.]// *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2020. – Vol. 65. – P. 171–179.
2. Cook, D.J. Probiotics: prevention of severe pneumonia and endotracheal colonization trial – PROSPECT: a pilot trial. /D.J. Cook [et al.] // *Trials.* – 2016. – Vol. 17. – № 377. – 10.1186/s13063-016-1495-x.
3. Daneshkhan, A. The possible role of vitamin D in suppressing cytokine storm and associated mortality in COVID-19 patients/ A. Daneshkhan [et al.]// *MedRxiv.* – 2020. – Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.08.20058578v4>.
4. Kullar, R. Potential Roles for Probiotics in the Treatment of COVID-19 Patients and Prevention of Complications Associated with Increased Antibiotic Use / R. Kullar [et al.]//*Antibiotics.* – 2021. – Vol. 10. – № 408. – P. 1–12. – doi.org/10.3390/antibiotics10040408.
5. Lehtoranta, L. Specific probiotics and virological findings in symptomatic conscripts attending military service in Finland/ L. Lehtoranta [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2014. – Vol. 60. – P. 276–281.
6. Lei, W.T. Effect of Probiotics and Prebiotics on Immune Response to Influenza Vaccination in Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials/ W.T. Lei [et al.]// *Nutrients.* – 2017. – № 9. –doi.org/10.3390/nu9111175.
7. Lopez-Santamarina, A. Probiotic effects against virus infections: new weapons for an old war /A. Lopez-Santamarina [et al.]// *Foods.* – 2021. – Vol. 10. – № 1. – doi.org/10.3390/foods10010130.
8. Kuran, S.J. Probiotics in Prevention and Treatment of COVID-19: Current Perspective and Future Prospects/ S.J. Kurian [et al.]//*Arch Med Res.* – 2021. – Vol. 52. – №1. – P. 582–594.
9. Stavropoulou, E. and Bezirtzoglou, E. Probiotics in Medicine: A Long Debate / E. Stavropoulou and E. Bezirtzoglou // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – № 2192. – doi: [10.3389/fimmu.2020.02192](https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02192).
10. Spagnolello, O. Targeting Microbiome: An Alternative Strategy for Fighting SARS-CoV-2 Infection/ O. Spagnolello [et al.] // *Chemotherapy.* – 2021. – Vol. 66. – P. 24–32.
11. Sundararaman, A. Role of probiotics to combat viral infections with emphasis on COVID-19/ A. Sundararaman [et al.]// *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2020. – Vol. 104. – P. 8089–8104.

РОЛЬ ИНТЕРФЕРЕНЦИИ ВИРУСОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Островцова С.А.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь

Пандемия COVID-19, вызванная новым высокопатогенным коронавирусом SARS-CoV-2, внесла существенные изменения в статистику заболеваемости вирусными инфекциями: сеть клинических лабораторий CDC зарегистрировала резкое снижение заболеваемости для большинства наиболее распространенных респираторных и желудочно-кишечных вирусных инфекций, кроме COVID-19. Наиболее популярные объяснения этого феномена – это глобальный локдаун, ношение масок, дистанцирование и целый ряд других мер, направленных на сдерживание распространения коронавируса [7].

Так, например, мониторинг случаев полиомиелитоподобного паралича у детей – инфекции, вызываемой респираторным энтеровирусом D68, показывает, что заболеваемость, которая неуклонно росла, начиная с 2014 года, достигнув пика в 2018 году, в 2020 году снизилась более, чем на 80 процентов [7].

Было отмечено также значительное снижение частоты случаев заболеваний, вызываемых вирусами Коксаки А и В, метапневмовирусом, вирусами парагриппа, респираторно-синцитиальным (РСВ) и аденовирусом [6].

Респираторный эпителий, который является входными воротами для респираторных вирусов, часто подвергается воздействию как риновирусов, РСВ и других вирусных патогенов, в основном являющихся причиной банальной простуды, так и вирусов гриппа А – ведущих патогенов, вызывающих ежегодные глобальные эпидемии. Чаще всего вирусные инфекции рассматриваются и обсуждаются отдельно друг от друга, в соответствии с теми вирусами, которые их вызывают. Но на практике человеческий организм ежедневно может подвергаться воздействию нескольких вирусных патогенов одновременно, и смешанная инфекция, то есть одновременное заражение несколькими вирусами – вполне реальная ситуация. Проникновение в организм человека сразу нескольких респираторных вирусов (коинфекции) может привести к развитию как относительно легкого, так и серьезного заболевания с тяжелой симптоматикой. В таком случае взаимодействие патогенов с клеткой-хозяином происходит одновременно, либо последовательно – в форме микст-инфекции или суперинфекции. Одним из вариантов коинфекции является вирусная интерференция: ситуация, когда вирусы взаимодействуют друг с другом. В некоторых случаях, если происходит заражение различными вирусами, и они способны сосуществовать в одной и той же инфицированной ими клетке, наблюдается явление так называемой вирусной аккомодации. Взаимодействие респираторных патогенов может быть и синергическим, когда первоначальная инфекция осложняет течение следующей. При этом сопутствующие инфекции могут играть ключевую роль в усилении тяжести основного заболевания, а также, возможно, и в дальнейшем распространении патогенов.

Вирусная интерференция может быть охарактеризована как гетерологичная – конкуренция между вирусами, принадлежащими к разным семействам, гомологичная, если оба вируса принадлежат к одному и тому же семейству и гетеротипичная – в том случае, когда конкурирующие вирусы относятся к разным серотипам одного и того же вида. Если интерференция происходит в форме конкуренции, то в этом случае первый вирус, инфицирующий клетку, предотвращает заражение ее вторым вирусом. Механизмы, лежащие в основе интерференции включают, например, конкуренцию вирусов за факторы репликации, трансляции и др., которыми их обеспечивает клетка-хозяин. Использование потенциала клетки первичным вирусом, который первым проникает в клетку, может приводить к подавлению активности второго, проникающего в эту же клетку при суперинфекции. В основе такого явления могут лежать инициированные вирусом реакции, моделирующие функционирование естественного иммунитета, такие как модификация сигналов «киназы Януса» и Toll-путей. При этом нуклеиновая кислота одного из вирусов может быть вовлечена в инициирование клеточных реакций, которые и приводят к интерференции [1].

Еще одним механизмом, инициирующим вирусную интерференцию, может быть продукция клеткой, стимулируемой вирусом при первичной инфекции, противовирусных интерферонов, способных ингибировать следующее заражение данной клетки гомологичными, а также и гетерологичными вирусами. Действие секретируемых интерферонов распространяется на множество клеток в воротах инфекции, обеспечивая их устойчивость к последующему инфицированию.

Изучение явления интерференции в качестве одного из подходов в противовирусной терапии ведется уже давно, поскольку данное явление может быть использовано, например, в лечении вирусных инфекций, вызываемых патогенами, способными быстро мутировать и проявлять множественную устойчивость к противовирусным препаратам.

Значительный объем накопленных данных, свидетельствующих о явлении ингибирования репликации некоторых респираторных вирусов риновирусами человека (РВЧ), которое может стать определенным способом защиты от развития более тяжелых, чем риновирусная, инфекций, инициировал исследования, направленные на поиск возможных вариантов воздействия этих вирусов на репликацию и передачу SARS-CoV-2 – вируса тяжелого острого респираторного синдрома [5, 8].

Метагеномный анализ, а также такие методы исследований, как ПЦР и культивирование вирусов, показывают, что в дыхательных путях человека, особенно в их верхних отделах, обнаруживается микробиом, разнообразие которого аналогично микробиому кожи. Широкий спектр респираторных вирусов и их одновременная циркуляция вполне может привести к коинфекции: такой ситуации, когда в организм проникают два (или более) респираторных патогена, участвующих в развитии заболевания [3].

Замечено, например, что риновирусы человека и вирус гриппа А (ВГА)

негативно взаимодействуют как на уровне одного организма, так и на уровне популяции. Утверждается, например, что активная одновременная циркуляция РВЧ и ВГА (H1N1) затормозила распространение пандемического гриппа во Франции в 2009 году [2]. В лабораторных исследованиях с использованием клеточных культур респираторного эпителия дыхательных путей человека показано, что инфицирование клеток риновирусом вызывало индукцию экспрессии генов ISG (от англ. Interferon-Stimulated Gene), что приводило к активному синтезу противовирусного интерферона и защищало клетки от последующей инфекции вирусом гриппа А [8]. Механизм взаимодействия двух вирусов проверяли на первичных культурах эпителия дыхательных путей, полученных от здоровых доноров. Первоначально культуру клеток инфицировали штаммом риновируса HRV-01A, а через три дня – вирусом гриппа А (штамм H1N1), меченным флуоресцентным белком. Ответную реакцию клеток на инфекцию и репликацию вируса гриппа А в присутствии риновируса регистрировали с помощью ОТ-ПЦР и флуоресцентной микроскопии. Оказалось, что через 72 часа после заражения культуры клеток риновирусом происходит активация четырех интерферон-регулируемых генов ISG, что приводит к блокированию репликации вируса гриппа А. В итоге показано, что в инфицированных вирусом гриппа А клетках, в том случае, если их заражение происходило после риновируса, репликация вируса гриппа была резко снижена. Результаты эксперимента также показали, что уровень подавления патогена, вызывающего грипп при первоначальном заражении культуры клеток риновирусом такой же, как после их обработки интерфероном [8].

С использованием ALI HBEC -культуры клеток эпителия дыхательных путей (от англ. Air-Liquid Interface – интерфейс воздух-жидкость и Human Bronchial Epithelial Cells – клетки бронхиального эпителия человека) – системы, которая идеально подходит для изучения функционирования эпителиальных клеток в условиях их взаимодействия как с жидкостью, так и с воздухом, что позволяет имитировать очаг инфекции близкий к реальным условиям, существующим в дыхательных путях человека, и моделировать роль вирусного тропизма и иммунных реакций естественного иммунитета на динамику протекания инфекции в организме, показано, что наличие риновируса человека в клетках бронхиального эпителия нарушает репликацию в них SARS-CoV-2 и его распространение во входных воротах инфекции. В частности, отмечается, что инфицирование РВЧ инициирует синтез противовирусного интерферона, который делает большинство клеток устойчивыми к заражению SARS-CoV-2. В то же время репликация риновируса не зависит от присутствия SARS-CoV-2, который восприимчив к действию интерферона и кодирует множество генов, способных влиять на его продукцию [4]. Для изучения опосредованной интерфероном активации реакций естественного иммунитета, индуцируемых каждым из вирусов, была использована флуоресцентная микроскопия. Сравнительная характеристика экспрессии синтеза интерферон-стимулируемого противовирусного белка MxA (от англ. Mxovirus resistAnce) показала, что культуры ALI HBEC, инфицированные риновирусом человека,

экспрессируют высокие уровни белка MxA, в отличие от низких уровней MxA, наблюдаемых в культурах, инфицированных SARS-CoV-2. Коинфицированные культуры также демонстрировали высокие уровни экспрессии MxA, аналогичные тем, которые наблюдались при заражении клеток только риновирусом. Далее было выполнено исследование, включающее использование иммунофлуоресценции меченых специфических антител, направленных против нуклеокапсида SARS-CoV-2. Обнаружено, что синтез вирусного нуклеокапсида происходил в основном в апикальной области эпителиальных клеток, подверженных единичной инфекции SARS-CoV-2, но не выявлялся в коинфицированных обоими вирусами клетках. В целом, данные эксперименты показывают, что репликация SARS-CoV-2 в ALI-культурах НВЕС не прогрессирует при наличии в них РВЧ, который стимулирует мощную реакцию выработки противовирусного интерферона и белков противовирусной защиты организма [4].

Поскольку постоянно циркулирующие в человеческой популяции риновирусы, вызывают в основном банальную простуду и являются наиболее распространенными респираторными вирусными патогенами, предлагаемая концепция применения явления интерференции с привлечением конкурирующего непатогенного вируса или вируса с низкой патогенностью в качестве первичного инфицирующего агента может рассматриваться в качестве одного из способов профилактики COVID-19 и в чем-то похоже на практику применения живой (ослабленной) вакцины. Однако, как и для других процедур, включенных в разработку вакцин, существует ряд условий и ограничений. Экономическую эффективность и целесообразность предлагаемого подхода можно оценить лишь с помощью дополнительных экспериментальных и клинических исследований. Следует также отметить, что даже после перенесенной инфекции, вызванной риновирусом, при контакте с SARS-CoV-2, если таковой произойдет, например, через неделю или позже, синтезированных в организме интерферонов и других противовирусных белков может оказаться недостаточно, чтобы успешно блокировать инфекцию. Безусловно, длительный иммунитет, который включает выработку высокоспецифичных антител и активацию других специфических иммунных механизмов защиты, может быть достигнут только при непосредственном контакте с вирусом: в ходе болезни, либо путем вакцинации.

Литература

1. Ahmadi, M. H. Would the interference phenomenon be applied as an alternative option for prophylaxis against COVID-19? / M. H. Ahmadi// *Bioimpacts*. – 2021. – Vol. 11. – № 3. – P.169–172. – doi: 10.34172/bi.2021.12.
2. Casalegno, J.S. Rhinoviruses delayed the circulation of the pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus in France// *Clin Microbiol Infect*. – 2010. – № 16. – P.326–329.
3. Dee, K. Human Rhinovirus Infection Blocks Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Replication Within the Respiratory Epithelium: Implications for COVID-19 Epidemiology/ K. Dee [et al.]// *The Journal of Infectious Diseases*. – 2021. – Vol. 224. – № 1. – P. 31–38. – doi.org/10.1093/infdis/jiab147.
4. Lei, X. Activation and evasion of type I interferon responses by SARS-CoV-2/ X. Lei [et al.]// *Nat Commun*. – 2020. – № 11. – Article № 3810.

5. Nickbakhsh, S. Virus-virus interactions impact the population dynamics of influenza and the common cold/ S. Nickbakhsh [et al.]// Proc Natl Acad Sci. – 2019. – № 116. – P. 27142–50.
6. Takashita, E. Increased risk of rhinovirus infection in children during the coronavirus disease-19 pandemic/ E. Takashita [et al.]//Influenza and other respiratory viruses. – 2021. – Vol 15. – №4. – P. 488–494. – doi.org/10.1111/irv.12854.
7. Weekly US Map: Influenza Summary Update/ CDC/<https://www.cdc.gov/flu/weekly/index.htm>.
8. Wu, A. Interference between rhinovirus and influenza A virus: a clinical data analysis and experimental infection study / A. Wu [et al.] // Lancet Microbe. – 2020. – №1(6). – doi: 10.1016/s2666-5247(20)30114.

МУТАЦИОННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ К ПОЛИМИКСИНАМ У ЭКСТРЕМАЛЬНО-АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Петровская Т.А.¹, Карпова Е.В.¹, Тапальский Д.В.¹, Баранов О.Ю.²

¹Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

²Институт леса Национальной академии наук Беларуси, Беларусь
Лаборатория генетики и биотехнологии

Актуальность. Вследствие роста потребления полимиксинов, остающихся препаратами «последнего резерва» для лечения тяжелых внутрибольничных бактериальных инфекций, в Республике Беларусь отмечено появление резистентные к ним штаммов *Klebsiella pneumoniae*. Применение колистина (полимиксина E) является независимым фактором риска возникновения резистентности к нему у грамотрицательных бактерий в условиях стационаров. Было установлено, что колонизация или инфицирование устойчивыми к колистину штаммами *K. pneumoniae* связаны с предыдущим употреблением колистина.[1] У *K.pneumoniae* устойчивость к полимиксинам (полимиксину B и колистину) как правило связана с модификацией фосфатных фрагментов липида А липополисахарида (ЛПС) углеводом или этаноламином, что снижает электростатическое взаимодействие между катионными полимиксинами и анионным ЛПС. Молекулярные механизмы, ответственные за устойчивость к колистину, основаны на мутациях в генах двухкомпонентных систем PmrAB, PhoQP, CtrBA, которые реагируют на различные параметры окружающей среды (низкий pH, концентрация ионов Mg²⁺, катионные антимикробные пептиды и др.), а также, в генах *mgrB*, *udg*, *usiM*, *IpxM*. [2]

Устойчивость к полимиксинам у *K. pneumoniae* также может быть вызвана инактивацией гена *mgrB*. MgrB представляет собой небольшой регуляторный трансмембранный белок, продукция которого индуцируется при активации сигнальной системы PhoQ/PhoP. Он оказывает отрицательную обратную связь в той же системе путем прямого воздействия с сенсорной киназой PhoQ на периплазматическом уровне. Мутации в гене *mgrB* ведут к повышению экспрессии оперона *pmrHGIJKLM*, что приводит к накоплению LAra4N, модификации ЛПС и возникновению устойчивости к колистину [3].

Цель. С использованием метода полногеномного секвенирования оценить молекулярно-генетические механизмы устойчивости к полимиксидам у нозокомиальных штаммов *K.pneumoniae*.

Материалы и методы исследования. Из рабочей коллекции отобрано 13 штаммов *K.pneumoniae* с множественной (*MDR – multidrug resistance*) или экстремальной (*XDR – extensively drug resistance*) устойчивостью к антибиотикам. Штаммы были выделены от госпитализированных пациентов в 2016-2020 гг. в ходе многоцентровых исследований в организациях здравоохранения Гомеля (4 штамма), районных центров Гомельской области (3 штамма), а также Витебска (4 штамма) и Минска (2 штамма).

Для проведения полногеномного секвенирования культуры микроорганизмов выращивали на питательном агаре (Nutrientagar, HiMedia, Индия) в течение 24 ч при 35°C. Выделение ДНК из бактериальных культур проводили с использованием коммерческого набора (NucleoSpin Microbial DNA, «Macherey-Nagel») в соответствии с инструкцией производителя. Полупроводниковое секвенирование проводилось в геномном секвенаторе Ion PGM System (Thermo Fisher Scientific, США) на основе использования микрочипов Ion 314 Chip v2, Ion 318 Chip v2 и набора Ion PGM Hi-Q Sequencing 200 Kit. Сборку геномных последовательностей и их аннотацию выполняли с помощью программного пакета Unipro UGENE v.1.29.0. Инсерционные элементы идентифицировали в базе NCBI с помощью ресурса NucleotideBLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi/>). Трансляция нуклеотидных последовательностей в аминокислотные выполнялась с помощью программного обеспечения CLC Sequence Viewer v.8.0 (QIAGEN). Сопоставление исследуемых аминокислотных последовательностей продуктов трансляции осуществляли с помощью ресурса Protein BLAST. Для моделирования структуры полипептидов использовали он-лайн ресурс Protein 3D structure SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org>). Функциональная аннотация транслируемых полипептидов производилась в базе данных консервативных доменов NCBI CD (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml>). Для прогнозирования влияния нуклеотидных замен на структуру аминокислотных последовательностей и функциональную активность белков использовали программный инструмент PROVEAN.

Результаты. В ходе сравнения последовательностей генов *pmrA*, *pmrB*, *phoP* и *phoQ* исследованных образцов с референсным штаммом *K. pneumoniae* ATCC 700603, были выявлены несинонимичные однонуклеотидные замены (SNP), не приводящих к изменению функциональной активности продуктов трансляции. Так, в гене *phoP* у всех исследуемых штаммов была выявлена одна несинонимичная однонуклеотидная замена, приводящая к замене лизина на аргинин в 34-й позиции (K34R). Ген *pmrA*, всех исследуемых штаммов отличался от референсной последовательности пятью SNP, приводящими к заменам аминокислот A64S, D131N, Q140L, D199E, H219N. Только замена Q140L была маркирована программой PROVEAN как влияющая на функциональную активность белка, однако она присутствовала как у колистиночувствительных

(БК-104, БК-148, 420, 9068), так и у колистинорезистентных штаммов. В гене *phoQ* у всех штаммов были обнаружены одинаковые замены, не влияющие на функциональную активность белка: K64R, K92Q, T106A, D112E, V139I, F163L, I196V, S372T, P424Q, L482Q, E487Q.

Выявлен ряд замен в гене *pmrB*, присутствующих только у колистинорезистентных штаммов: D150Y у штамма *K. pneumoniae* БК-167 с (МПК колистина 64 мг/л), T157P у штамма *K. pneumoniae* 37999 (МПК колистина 64 мг/л), G207S у штаммов *K. pneumoniae* МК-07 (МПК колистина 64 мг/л) и *K. pneumoniae* БК-045 (МПК колистина 64 мг/л). Данные замены программой PROVEAN были обозначены, как функционально значимые.

При сравнении гена *mgrB* колистиночувствительных штаммов с референсной последовательностью, отличий выявлено не было. У колистинорезистентного штамма *K. pneumoniae* БК-168 (МПК колистина 128 мг/л) в *mgrB* присутствовала функционально значимая замена W20R. Еще у 4 штаммов устойчивость к колистину была вызвана инсерционной инактивацией генов *K. pneumoniae* транспозонами семейств IS1, IS4 и IS5. Указанные штаммы (*K. pneumoniae* МК-07, *K. pneumoniae* БК-045, *K. pneumoniae* 3125, *K. pneumoniae* 2564) имели МПК колистина 64-128 мг/л. У двух колистинорезистентных штаммов (*K. pneumoniae* БК-170, *K. pneumoniae* БК-171) не удалось выявить значимые механизмы устойчивости в исследуемых генах.

Выводы. Выявлены генетические механизмы устойчивости к колистину (инсерционная инактивация и делеция гена *mgrB*, замены D150Y, T157P и G207S в гене *pmrB*) у штаммов с МПК колистина 64-128 мг/л и их отсутствие у колистиночувствительных штаммов.

Литература

1. Ah, Y. M. Colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* / Y. M. Ah, A. J. Kim, J. Y. Lee // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2014. – Vol. 44. – P. 8–15.
2. Resistome of carbapenem- and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. / S. Lomonaco [et al.] // PLoS One. – 2018. – Vol. 13 (6). – Art. e0198526.
3. Molecular epidemiology of colistin-resistant Enterobacteriaceae in inpatient and avian isolates from China: high prevalence of mcr-negative *Klebsiella pneumoniae* / X. Wang [et al.] // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2017. – Vol. 50. – P. 536–541.

АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТЬ У ПАЦИЕНТОВ С ПНЕВМОНИЕЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИСКУССТВЕННОЙ ВЕНТИЛЯЦИИ ЛЕГКИХ

Предко В.А.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра анестезиологии и реаниматологии

Актуальность. Аппараты искусственной вентиляции легких – это устройства, обеспечивающие процесс дыхания у пациентов. Пациенты с интубацией трахеи и, находящиеся на искусственной вентиляции легких более 48 часов, подвержены опасности инфицирования – а именно, развития такого осложнения, как вентилятор-ассоциированная пневмония.

Пневмония может вызвать серьезные осложнения и в некоторых случаях может привести к смерти. При лечении людей с пневмонией большее значение играет рациональная антибактериальная терапия. Это назначение важно, так как неподходящее лечение в начале заболевания может увеличить риск возникновения неблагоприятных эффектов и продлить срок госпитализации.

Цель исследования. Анализ частоты встречаемости определенных микроорганизмов у пациентов с вентилятор-ассоциированными пневмониями, а также антибиотикочувствительность и антибиотикорезистентность наиболее часто высеваемых штаммов микроорганизмов.

Материалы и методы исследований. В УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи г. Гродно» было проведено ретроспективное эпидемиологическое исследование, при котором были проанализированы 45 результатов клинко-микробиологического исследования пациентов (мужчины и женщины в возрасте от 20 лет и старше) с вентилятор-ассоциированными пневмониями, которые находились на лечении в отделении реанимации. Материалом для клинко-микробиологического исследования послужили биологические среды: мокрота, аспират трахеи и бронхов. Для характеристики резистентности использовались термины «резистентные» (R), «чувствительные» (S) и «умеренно чувствительные» (I).

Результаты исследований. Из проанализированных 45 клинко-микробиологических исследований мокроты и трахеобронхиального аспирата микроорганизмы высеяны в 42 случаях, что составляет 93% от общего количества. Лидирующее положение занимает грамотрицательные микроорганизмы (62%). Из них наиболее часто высеваемые штаммы *Pseudomonas aeruginosa* (17%), *Enterobacteriaceae* (10%), *Klebsiella pneumoniae* (17%).

Грамположительные микроорганизмы (14%) представлены родом *Staphylococcus*: *Staphylococcus aureus*.

Также были высеяны дрожжевые грибы (24%). Из них наиболее часто высеваемые класса *Saccharomycetes*, рода *Candida* (*Candida albicans*).

Pseudomonas aeruginosa проявляет устойчивость свыше 67% к многим видам антибиотиков (Бета-лактамы, тетрациклины, аминогликозиды, фторхинолоны), из них 100% резистентность (R) отмечалась к следующим антибиотикам: пенициллины (ампициллин, амоксициллин/клавулановая кислота); цефалоспорины (1 поколение – цефалотин, 2 поколение – цефуроксим, цефокситин, 3 поколение – цефотаксим, цефтриаксон, цефтазидим); тетрациклины (тетрациклин); фторхинолоны (норфлоксацин), Ко-тримоксазол. Наиболее чувствительна (S) *Pseudomonas aeruginosa* к полимиксидам (Полимиксин В (73%), Полимиксин Е (83%)).

Enterobacteriaceae проявляет устойчивость свыше 60% к пенициллинам (амоксиклав, амоксициллин/клавулановая кислота); цефалоспорины, 3 поколение – цефотаксим; аминогликозидам (гентамицин, амикацин, ципрофлоксацин); тетрациклинам (тетрациклин); нитрофуранам (нитрофурантоин); Ко-тримоксазолу. 100% чувствительность отмечалась к имипенему (карбапенемы). Умеренно чувствительна (I) к

ингибиторозащищенным пенициллинам (Пиперациллин/Тазобактам); цефалоспорином (3 поколение – Цефтазидим).

Klebsiella pneumoniae проявляет устойчивость свыше 67% к следующим видам антибиотиков (бета-лактамы, тетрациклины, аминогликозиды, фторхинолоны), из них 100% резистентность отмечалась к: пенициллинам (ампициллин); цефалоспорином (1 поколение – цефазолин, 3 поколение – цефтриаксон); фторхинолоном (левофлоксацин). Наиболее чувствительна *Klebsiella pneumoniae* к цефокситину (цефалоспорины, 2 поколение), эртапенем (карбапенем), амикацин (аминогликозид), Ко-тримоксазол – 100%; гентамицин (аминогликозид), меропенем (карбапенем) – 67%. Умеренная чувствительность 67% к нитрофурантоин (нитрофуран).

Staphylococcus aureus – резистентность 60% к бензилпенициллину (природный пенициллин), 100% к цефотаксиму (цефалоспорины, 3 поколение). Наиболее чувствителен *Staphylococcus aureus* к бета-лактамам, тетрациклином, аминогликозидам, фторхинолоном, нитрофураном. 100% чувствительность отмечалась к: тайгециклину (глицилциклин), тобрамицину (аминогликозид), тейкопланину (гликопептид), линезолиду. Умеренная чувствительность 100% к линкомицину (линкосамид).

Грибы рода *Candida* проявляют устойчивость свыше 77% к азолам (флуконазол, кетоконазол, клотримазол). Чувствительны к полиеновым антибиотикам (амфотерицин В, нистатин), азолам (вориконазол).

Выводы.

1. Полученные результаты свидетельствуют о преобладании грамотрицательной флоры среди возбудителей вентилятор-ассоциированных пневмоний, из них наиболее часто высеваемые штаммы *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacteriaceae*, *Klebsiella pneumoniae*.

2. Выявлена наибольшая антибиотикорезистентность против данной флоры к пенициллинам, цефалоспорином, фторхинолоном.

3. При вентилятор-ассоциированных пневмониях в качестве эмпирической антибиотикотерапии могут быть использованы карбапенемы.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ В РЕАНИМАЦИОННОМ ОТДЕЛЕНИИ У ПАЦИЕНТОВ С СЕПСИСОМ

Предко В.А.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра анестезиологии и реаниматологии

Актуальность. В последние годы в мировой практике сепсису уделяется пристальное внимание. Наиболее частыми причинами смерти в ОАРИТ некоронарного профиля являются септический шок и полиорганная недостаточность, летальность при которых достигает 80%.

Расширение спектра возбудителей, ограничение возможностей бактериологической диагностики и развитие антибиотикочувствительности

микроорганизмов обуславливает сложность антибактериальной терапии сепсиса.

Цель. Изучение спектра возбудителей, высеваемых при сепсисе, а также антибиотикочувствительности наиболее часто высеваемых штаммов микроорганизмов.

Материалы и методы исследования. В ОАРИТ УЗ «ГКБСМП г. Гродно» было проведено ретроспективное эпидемиологическое исследование, включающее анализ результатов микробиологических исследований 50 посевов, выделенных из крови. Для характеристики резистентности использовались термины «чувствительные» (S), «резистентные» (R) и «умеренно чувствительные» (I).

Результаты. Из 50 посевов крови за период 2014-2016 гг. положительный результат получен в 19 случаях, что составило 38% от общего количества посевов. Лидирующее положение занимают грамположительные микроорганизмы (73,7%), такие как рода *Staphylococcus*.

Доля грамотрицательных организмов составил 26,3%, которые были представлены род *Enterococcus* 5,3%, *Ac.baumannii* 5,3%, *E.coli* 10,4%, *Kl.pneumoniae* 5,3%.

Результаты определения чувствительности(S), резистентности(R) и умеренной чувствительности(I) представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Антибиотикочувствительность *Staphylococcus*

Staphylococcus		R	S	I
Гликопептиды	Ванкомицин		100%	
	Тейкопанин		100%	
Ингибиторозащищенные пенициллины	Ампициллин/Сульбактам	100%		
Природные пенициллины	Бензилпенициллин	75%	25%	
Антистафилакокковые пенициллины	Оксациллин	62%	38%	
Цефалоспорины	2 поколение	Цефуроксим	100%	
		Цефуроксим/аксетил	100%	
		Цефаклор	60%	40%
		Цефокситин	100%	
	3 поколение	Цефтриаксон	40%	40%
Тетрациклины	Тетрациклин	100%		
Глицилциклины	Тайгециклин	100%		
Аминогликозиды 3 и 4 поколений	Тобрамицин	100%		
	Гентамицин	27%	64%	9%
Фторхинолоны	Левифлоксацин	27%	55%	18%
	Моксифлоксацин	14%	64%	22%
	Ципрофлоксацин	50%	33%	17%
Линкосамиды	Клиндамицин	57%	36%	7%
Ко-тримоксазол		20%	80%	
Линезолид			92%	8%
Нитрофураны	Нитрофурантоин	18%	82%	
Рифампицин		25%	75%	
Макролиды	Эритромицин	75%	25%	

E.coli также является одним из наиболее часто высеваемых в ОАРИТ микроорганизмов. Результаты определения представлены в таблице 2.

Таблица 2. – Антибиотикочувствительность *E. coli*

E. coli		R	S	I
Ингибиторозащищенные пенициллины	Пиперациллин/тазобактам		100%	
	Амоксиклав			100%
	Ампициллин/Сульбактам			100%
Аминопенициллины	Ампициллин	100%		
Антисинегнойные пенициллины	Пиперациллин	100%		
Монобактамы	Азтреонам		100%	
Цефалоспорины	1 поколение	Цефалотин	100%	
	2 поколение	Цефуросим	50%	50%
		Цефокситин		100%
		Цефуросим/аксетил	50%	50%
	3 поколение	Цефтриаксон		100%
		Цефтазидим	100%	
		Цефотаксим	100%	
		Цефподоксим	100%	
	4 поколение	Цефиксим		100%
		Цефепим		100%
Карбапенемы	Имипенем		100%	
	Меропенем		100%	
Тетрациклины	Тетрациклин		100%	
	Миноциклин		100%	
Глицилциклины	Тайгециклин		100%	
Аминогликозиды	Тобрамицин		100%	
	Гентамицин		100%	
Фторхинолоны	Левифлоксацин		100%	
	Моксифлоксацин		100%	
	Ципрофлоксацин		100%	
	Норфлоксацин		100%	
Полимиксины	Полимиксин Е (Колистин)		100%	
Хлоропирамин			100%	
Нитрофураны	Нитрофурантоин		100%	

Выводы.

1. Полученные нами результаты свидетельствуют о преобладании грамположительной флоры среди возбудителей сепсиса, а именно представителей рода *Staphylococcus*, которые являются MRSA устойчивыми.

2. Препаратами выбора для лечения являются фторхинолоны 3 поколения и аминогликозиды 3 и 4 поколений.

3. Отмечается тенденция к возникновению условной резистентности к линезолиду.

4. Антибиотики резерва для терапии сепсиса являются гликопептиды и линезолид.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ И ВКУСОВОЙ ДИСФУНКЦИИ У ЛИЦ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19 (ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНКЕТИРОВАНИЯ)

Сидорович Е.А., Аскерко М.К., Высоцкая М.Ю.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

Актуальность. До пандемии COVID-19 обонятельная дисфункция редко диагностировалась, и часто недооценивалась медицинскими работниками. В настоящее время нарушение функции обоняния считается одним из основных симптомов коронавирусной инфекции [1]. Американская академия отоларингологии и Британская ассоциация отоларингологии рекомендовали включить нарушение обоняния в список первичных симптомов для скрининга COVID-19 [2]. Эти нарушения обычно не связаны с другими назальными симптомами, такими как заложенность носа и ринорея [3]. Нарушения обоняния могут быть количественными (аносмия – полная потеря обоняния и гипосмия – снижение обоняния) и качественными (паросмия и фантосмия). Паросмия – это искаженное восприятие запахов, при котором привычные повседневные запахи становятся неузнаваемыми и неприятными (тропосмия), или в редких случаях воспринимаются как другой, но приятный запах (эуосмия). Фантосмия – это ощущение запаха при отсутствии существующего раздражителя [4]. Часто паросмия и фантосмия возникают в сочетании с количественными расстройствами обоняния, но в редких случаях они могут проявляться сами по себе [5]. Обычно в случаях COVID-19 нормальная обонятельная функция возвращается в течение нескольких недель, но иногда обоняние долго не восстанавливается, а в некоторых случаях через 2-3 месяца после выздоровления возникает паросмия, которая может длиться до года и более.

Наряду с обонятельной дисфункцией встречаются и расстройства вкуса (дисгевзия), которые в основном состоят из уменьшения или потери вкуса (гипогевзия и агевзия) [6, 7]. Вкусовые сигналы, однако, сочетаются с ощущениями, создаваемыми ретроназальным обонянием, что позволяет ощущать все ароматы пищи. В результате обонятельно-вкусовых взаимодействий, лежащих в основе восприятия вкуса, пациентам трудно отличить дисгевзию от обонятельных расстройств, и поэтому симптомы запаха и вкуса часто сообщаются вместе [8].

Цель. Установить распространенность обонятельной и вкусовой дисфункции у лиц, перенесших COVID-19.

Методы исследования. Валеолого-диагностическое исследование проводилось среди 250 респондентов – жителей Республики Беларусь, в возрасте от 15 до 55 лет, имеющих инфекцию COVID-19 в анамнезе. Анкетирование проводилось в Интернете с помощью сервиса forms.google.com. (критерий включения: наличие информированного согласия).

Результаты. Среди опрошенных респондентов было 196 женщин (78,4%) и 54 мужчины (21,6%). Большинство респондентов (81%) – студенты Гродненских ВУЗов в возрасте от 18 до 23 лет.

Инфекция COVID-19 была лабораторно подтверждена с помощью ПЦР-теста у 42,8% респондентов, остальные опрошенные предположили наличие болезни основываясь на клинических симптомах заболевания.

Большинство респондентов (96,8%), болевших COVID-19, лечились амбулаторно, так как заболевание протекало не тяжело и госпитализация не требовалась.

Инфекция COVID-19 протекала с нарушением функции обоняния у 86,4% респондентов. Обонятельная дисфункция проявлялась в виде anosмии (77,6%), гипосмии (4,4%) и паросмии (4,4%).

Восстановление обоняния произошло в течение нескольких суток у 16,8% опрошенных, в течение нескольких недель у 47,2%. В 12,8% случаев для восстановления потребовалось несколько месяцев, а у 9,6% респондентов обоняние не восстановилось на момент проведения опроса.

После выздоровления у 21,2% респондентов развилась паросмия: вместо привычных запахов стал ощущаться приторный сладковатый запах; разные шампуни и духи стали пахнуть одинаково; изменилось восприятие запаха собственного пота; кола стала пахнуть травой и т.д.

У 49,6% респондентов среди симптомов COVID-19 отмечалась потеря вкуса, у 12,8% – вкусовая чувствительность снижалась, а у 6,4% – вкус извращался. Примечательно, что у 40% опрошенных вкус был нарушен в течение нескольких недель, у 18% – в течение нескольких суток, а у 8,8% респондентов вкусовая чувствительность не восстановилась на момент проведения анкетирования. Через некоторое время после выздоровления у 26,4% респондентов развилось искажение вкусовой чувствительности: яйца на вкус казались протухшими, мясо – гнилым и несъедобным и т.д.

Полученные данные согласуются с данными J. Lechien и соавт. (2020 г.) которые провели мультицентровое исследование с целью изучения возникновения обонятельных и вкусовых нарушений у пациентов с лабораторно подтвержденной инфекцией COVID-19. Были обследованы 417 пациентов с легкой и средней степенью тяжести COVID-19. У 85,6% пациентов были выявлены жалобы на нарушения обоняния, нарушение вкусовой чувствительности отмечали 88,0% пациентов. Между обоими расстройствами наблюдалась достоверная корреляция ($p < 0,001$). При этом в 11,8% случаев дизосмия возникала еще до развития основных симптомов COVID-19. У 18,2% из обследованных пациентов отсутствовали признаки нарушения носового дыхания и ринорея, однако у большинства из них (79,7%) была выявлена гипосмия/аносмия [3, 9].

В качестве самопомощи, для нормализации вкуса и обоняния, большинство опрошенных использовали чеснок, кайенский перец, различные масла (чайное дерево, пихта) для ароматерапии и тренировки обоняния. Также применялись промывания носа, тайский массаж, прием витаминов и цинка, как

правило, с низкой оценкой эффективности.

Выводы. На основании проведенного исследования можно сделать вывод о высокой распространенности обонятельной и вкусовой дисфункции у лиц, перенесших COVID-19, причем нарушения вкуса и обоняния могут быть не только характерными ранними симптомами инфекции, но и довольно часто являться проявлениями постковидного синдрома (дисгевзия и паросмия развилась через некоторое время после выздоровления у 26,4% и 21,2% респондентов соответственно). Требуется тщательное изучение данной патологии для разработки эффективных методов профилактики и лечения.

Литература

1. Anosmia and ageusia: common findings in COVID-19 patients / L.A. Vaira [et al.] // *Laryngoscope*, 2020. – Vol. 10. – P. 1002.
2. Бигдай, Е.В. Обонятельная дисфункция как индикатор ранней стадии заболевания COVID-19 / Е.В. Бигдай, В.О. Самойлов // *Интегративная физиология*, 2020. – №3. – С.187.
3. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study / J. R. Lechien [et al.] // *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2020. – Vol. 277. – P.2251–2261.
4. Parosmia Due to COVID-19 Disease: A 268 Case Series/ Ali Rasheed [et al.]// *Indian journal of otolaryngology and head and neck surgery : official publication of the Association of Otolaryngologists of India*, 2021. – Vol. 10. – P. 1-8.
5. Position paper on olfactory dysfunction / T. Hummel [et al.] // *Rhinol. Suppl.*, 2017. – Vol. 54. – P.1–30.
6. Wee, L.E. The role of self-reported olfactory and gustatory dysfunction as a screening criterion for suspected COVID-19 / L.E.We, Y.F.Chan, N.W.Teo // *Eur. Arch. Otorhinolaryngol*, 2020. – Vol. 277. – P. 2389–2390.
7. Дисгевзия: причины возникновения нарушения восприятия вкуса. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://simptominfo.ru/simptom/180-disgevziya.html>. – Дата доступа: 12.09.2021.
8. Differences between orthonasal and retronasal olfactory functions in patients with loss of the sense of smell / B.N. Landis [et al.] // *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg*, 2005. – Vol. 131. – P. 977–981
9. Крюков, А.И. Нарушение обоняния у больных COVID-19: механизмы и клиническое значение / А.И. Крюков, А.А. Казакова, А.Б. Гехт // *Вестник оториноларингологии*, 2020. – Т. 85. – №5. – С. 93-97.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ПАЦИЕНТОВ ХИРУРГИЧЕСКИХ ОТДЕЛЕНИЙ УЗ «ГРОДНЕНСКАЯ УНИВЕРСИТЕТСКАЯ КЛИНИКА» ЗА 2020 ГОД

Сидорович Е.А.¹, Чернова Н.Н.², Янович Р.В.²

¹Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

²УЗ «Гродненская университетская клиника», Беларусь

Актуальность. В настоящее время отмечается повсеместная тенденция к увеличению доли инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями, в том

числе энтеробактериями [1]. Представители семейства *Enterobacteriaceae* обладают разнообразными механизмами устойчивости к антибактериальным препаратам. Социальная значимость антибиотикорезистентности определяется распространением устойчивых штаммов микроорганизмов, что обуславливает низкую эффективность антибиотикотерапии, приводит к удлинению сроков госпитализации, требует применения более дорогостоящих медикаментов. Отсутствие эффективных противомикробных препаратов может создать повышенную угрозу успехам современной медицины в лечении инфекций, в том числе при выполнении сложных хирургических операций [2]. Мониторинг резистентности микроорганизмов – ключ к пониманию масштабности проблемы антибиотикорезистентности и поиску ответственных решений [1, 3].

Цель. Оценить устойчивость к антибактериальным средствам микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*, их видовой спектр и распределение в структуре условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из клинического материала пациентов хирургических отделений УЗ «Гродненская университетская клиника» в 2020 году.

Материалы и методы исследования. За 2020 год микробиологическим отделом клиничко-диагностической лаборатории УЗ «Гродненская университетская клиника» было выполнено 13223 клиничко-микробиологических исследований и подвергнуто анализу 1242 изолята микроорганизмов, полученных из различного клинического материала пациентов 29 структурных подразделений клиники. 12,9% от общего числа изолятов было выделено из клинического материала двух хирургических отделений.

При проведении мониторинга использовались международные рекомендации, критерии оценки и интерпретации результатов [1]. Идентификация микроорганизмов проводилась на автоматическом анализаторе Vitek 2 compact, обработка данных выполнялась с помощью компьютерной программы WHONET 5.6. Для характеристики резистентности использовались два термина – «чувствительные (S)» и «устойчивые (R)». Предметом исследования стали чистые культуры аэробных и факультативно-анаэробных условно-патогенных бактерий, выделенных от пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями [4].

Результаты. В этиологии гнойно-воспалительных заболеваний пациентов Гродненской университетской клиники роль условно-патогенных микроорганизмов распределилась следующим образом:

- 58% – грамотрицательные условно-патогенные микроорганизмы;
- 37,2% – грамположительные условно-патогенные микроорганизмы;
- 4,8% – дрожжеподобные грибы рода *Candida*.

Преобладающее положение среди грамотрицательной флоры занимают энтеробактерии – 71,3%, среди которых доминирующая роль принадлежит *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli* (36% и 43% соответственно).

В этиологии гнойно-воспалительных заболеваний пациентов хирургических отделений роль микроорганизмов распределилась следующим образом (таблица 1).

Таблица 1. – Структура наиболее клинически-значимых условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из клинического материала пациентов хирургических отделений УЗ «Гродненская университетская клиника» за 2020 год

	Всего по клинике		Хирургическое отделение		Гнойная хирургия	
	n	%	N	%	N	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	140		0	0	27	19,3
Коагулазо-отрицательные стафилококки	120		2	1,7	5	4,2
<i>Streptococcus spp.</i>	112		1	0,9	2	1,8
<i>Enterococcus faecalis</i>	55		2	3,6	3	5,5
<i>Enterococcus faecium</i>	14		1	7,1	1	7,1
<i>Escherichia coli</i>	212		22	37,9	12	11,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	175		6	10,3	16	15,7
<i>Klebsiella oxytoca</i>	12		6	50	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	41		1	2,4	6	14,6
Прочие энтеробактерии	57		4	7,0	8	14,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	101		5	5,0	8	7,9
<i>Acinetobacter baumannii</i>	67		0	0	7	10,4
Прочие	136		8	5,9	7	5,1
Всего культур	1242		58	4,7	102	8,2

В хирургическом отделении из 58 выделенных за 2020 год возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний наибольший удельный вес занимали *Escherichia coli* 37,9% и *Klebsiella pneumoniae* 10,3%.

Практически все изоляты кишечной палочки проявляли высокие уровни чувствительности к тестируемым антибиотикам кроме триметоприм/сульфаметоксозола (S=0) и ампициллина (S=33,3%).

Klebsiella pneumoniae, выделенная из клинического материала пациентов хирургического отделения, проявляла наибольшую чувствительность к колистину (S=100%), эртапенему (S=100%), гентамицину (S=83,3%), амикацину (S=66,7%) и была устойчива к триметоприм/сульфаметоксозолу и ампициллину (S=0%). Уровень продукции бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) составил 33,3%.

Плазмидная локализация генов, кодирующих синтез БЛРС обеспечивает быстрое распространение устойчивости к цефалоспорином как среди патогенных, так и условно-патогенных энтеробактерий, в результате чего эффективность препаратов этой группы значительно снижается [3]. За анализируемый период из клинического материала пациентов отделения гнойной хирургии было выделено 102 изолята. Среди возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний в данном отделении чаще выделялась грамотрицательная флора (57 изолятов – 55,9%), среди которой ключевыми микроорганизмами оказались *Klebsiella pneumoniae* (28,1%) и *Escherichia coli* (21,1%).

Проведенный анализ чувствительности клебсиелл к антимикробным препаратам, показал высокий уровень их антибиотикорезистентности. Большая часть штаммов была нечувствительна к цефалоспорином 3-4 поколений

(цефтриаксон S=28,6%, цефепим S=35,7%). Ингибитор-защищенные бета-лактамы также не обладали высокой активностью (пиперациллин/тазобактам S=27,3%), Удельный вес изолятов *Klebsiella pneumoniae*, чувствительных ко фторхинолонам был невысок (ципрофлоксацин S=27,3%, моксифлоксацин S=11,1%). Сниженная активность наблюдалась и к карбопенемам (имипенем S=36,4%). Наибольшую же активность в отношении *Klebsiella pneumoniae* проявляли аминогликозиды (амикацин S=62,5%, колистин S=88,9%, тайгециклин S=53,8%) и в некоторой степени тетрациклины (S=45,5%). Штаммы, продуцирующие БЛРС не выделялись.

Изоляты кишечной палочки, выделенные из клинического материала пациентов отделения гнойной хирургии, проявляли высокие уровни чувствительности ко многим тестируемым антибиотикам кроме триметоприм/сульфаметоксозола (S=0%).

Выводы. В результате проведенного микробиологического мониторинга установлено, что среди неоднородного видового спектра возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний пациентов хирургического отделения и отделения гнойной хирургии энтеробактерии занимают ведущие позиции – 67,2% и 41,2% соответственно. Выделенные штаммы *E. coli*, сохраняли чувствительность к большинству тестируемых препаратов, из чего следует, что при назначении эмпирической антибактериальной терапии пациентам анализируемых отделений может быть использован широкий спектр антибиотиков согласно действующим клиническим протоколам.

Среди клебсиелл, выделенных из клинического материала пациентов хирургических отделений стационара, преобладали антибиотико-резистентные культуры с наличием полирезистентных штаммов. Вариабельность устойчивости клебсиелл к антимикробным препаратам может объясняться появлением опасных для распространения генов резистентности, что указывает на необходимость проведения постоянного мониторинга возбудителей инфекций с анализом механизмов их антибиотикоустойчивости и требует пересмотра алгоритмов ведения пациентов с позиций эффективности антибиотикотерапии.

Литература

1. Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance. Annual report 2020 [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/publications/2020/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance.-annual-report-2020> – Дата доступа: 23.08.2021
2. Гусаров, В. Г. Антибиотикорезистентность хирургических инфекций: современное состояние проблемы / В.Г. Гусаров, О.Э. Карпов, М.Н. Замятин // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова, 2017. – № 2. – С. 95-102.
3. Козлова, Н. С. Чувствительность к антибиотикам штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в многопрофильном стационаре / Н.С. Козлова, Н.Е. Баранцевич, Е.П. Баранцевич // Инфекция и иммунитет, 2018. – Т. 8. – № 1. – С. 79-84.
4. Микробиологические методы исследования биологического материала: инструкция по применению № 075-0210: утв. Заместителем Министра здравоохранения Республики Беларусь – Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 19.03. 2010 г. – Минск, 2010. – 123 с.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОРОЖДЕННЫХ С ИНФЕКЦИЕЙ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА

Синица Л.Н.¹, Пальцева А.И.¹, Козич А.А.², Дырман Т.В.³

¹Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
2-я кафедра детских болезней

²УЗ «Мостовская центральная районная больница», Беларусь

³УЗ «Гродненский областной клинический перинатальный центр», Беларусь

Актуальность. Продолжает оставаться актуальной проблема высокой заболеваемости новорожденных, что зачастую связано с инфекциями перинатального периода. В настоящее время наметилась тенденция к повышению роли факультативных патогенов в качестве агентов, способных у ребенка после рождения вызывать инфекционно-воспалительные процессы (внутриутробную пневмонию, конъюнктивит, ринит, энцефалит и их сочетания), зачастую в ассоциации с вирусами и грибковой флорой [1].

Колонизация новорожденных детей различными микроорганизмами является естественным физиологическим процессом, в результате которого формируется нормальная микрофлора и происходит становление защитных свойств организма ребенка. Однако, в процессе ранней неонатальной адаптации возможна транслокация микроорганизмов через защитные барьеры с последующим формированием очагов инфекционного процесса. Динамический мониторинг микробного пейзажа у пациентов отделений новорожденных является неотъемлемой частью инфекционного контроля за циркуляцией микроорганизмов в отделении [2, 3].

Цель. Характеризовать микробный пейзаж новорожденных с инфекцией перинатального периода.

Материалы и методы исследования. Проведен ретроспективный анализ 51 медицинской карты стационарного пациента (ф. № 096/у) новорожденных с диагнозом «инфекция перинатального периода» и имевших положительные результаты посевов из различных локусов. Все младенцы родились и находились на стационарном выхаживании в УЗ «Гродненский областной клинический перинатальный центр».

Забор материала производился в транспортные гелевые среды «Амиеса» и транспортировался согласно правилам транспортировки, которые определены приказом М-ва здравоохранения Респ. Беларусь № 1301 от 19.12.2015 «О мерах по снижению антибактериальной резистентности микроорганизмов» и инструкции «Микробиологические методы исследования биологического материала» № 075010.

Проведен анализ особенностей течения беременности и родов, клиническая характеристика ребенка, общеклинические лабораторные и инструментальные исследования. Для статистического анализа данных применяли пакеты прикладных программ Microsoft Excel и STATISTICA 10.0 для Windows (Stat Soft, Inc., США).

Результаты. Путем кесарева сечения родились 21,6% детей, через

естественные родовые пути 78,4%. В период проведения исследования в УЗ «ГОКПЦ» к операции кесарева сечения прибегали в 38,9% случаев. Мальчики и девочки составили 27 (52,9%) и 24 (47,1%) соответственно. Оценка по шкале Апгар на 1 минуте была 8 и более у подавляющего большинства детей (96%).

У женщин, дети которых родились с диагнозом «инфекция перинатального периода» отмечалось осложненное течение беременности. ОРВИ в различных сроках беременности отмечалось у 42 (82,4%) женщин, из них у 23 (45,1%) признаки острой респираторной инфекции отмечались накануне родов; 38 (74,5%) матерей – получали антибактериальную терапию во время беременности. Инфекции мочевыводящих путей отмечались у 13 (25,5%) беременных. Многоводие отмечалось у 18 (35,3%) пациенток, кольпит в родах – у 22 женщин (43,1%). У 36 пациенток (70,6%) отмечалась угроза прерывания беременности на различных сроках, из них 28 (54,9%) находились на стационарном лечении.

У исследованных детей выявлены следующие проявления инфекции перинатального периода: 31 случай (60,0%) врожденной пневмонии, ринофарингит у 7 детей (22,6%), везикулопустулез у 11 младенцев (35,5%), у 4 новорожденных имелось сочетание нескольких локализаций патологического процесса. У 8 детей имелось крайне тяжелое течение инфекционного процесса с развитием септического шока и полиорганной недостаточности.

Всем детям при установлении диагноза «инфекция перинатального периода» выполнялись посевы из 4-5 локусов на выявление микроорганизмов и их чувствительности к антибиотикам. Всего выделено 137 изолятов. Частота встречаемости различных штаммов представлена в таблице 1.

Таблица 1. – Микрофлора у пациентов с инфекцией перинатального периода

Выделенный штамм		количество	
		n	%
<i>Staphylococcus</i>	<i>Aureus (MRSA)</i>	6	4,4
	<i>Hominis</i>	5	3,6
	<i>Saprophyticus</i>	3	2,2
	<i>Haemolyticus</i>	37	27
	<i>Epidermidis (MRSA)</i>	12	8,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		6	4,4
<i>Enterococcus faecalis</i>		16	11,6
<i>Acinetobacter baumani</i>		5	3,6
<i>Escherichia coli</i>		11	8,0
<i>Streptococcus agalactiae</i>		13	9,5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		12	8,8
<i>Burkholderia cepacia</i>		3	2,2
<i>Pseudomonas putida</i>		4	2,9
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		1	0,7
Грибы рода <i>Candida</i>		2	1,4
Всего:		137	100

У 6 пациентов получен рост патологической флоры из крови, у 1 ребенка – из ликвора.

На долю стафилококков пришлось 46,0% выделенных штаммов, стрептококки составили 18,3%.

Данные микроорганизмы имели чувствительность к следующим антибиотикам: пиперациллин/тазобактам, амоксициллин, цефтазидим, цефепим, имипенем, линезолид, меропенем, ванкомицин, амикацин, гентамицин, тобрамицин, левофлоксацин, ципрофлоксацин, триметоприм, колистин, эритромицин. *Candida* показала чувствительность ко всем противогрибковым препаратам.

Заключение. Наиболее часто высеваемой флорой у детей с инфекцией перинатального периода продолжают оставаться стафилококки (46,0%). Далее по частоте идут стрептококки, в половине случаев – особенный возбудитель для неонатального периода *Streptococcus agalactiae*. У детей с инфекционным процессом выделяются и условно патогенные микроорганизмы, что подтверждает особое значение нарушенной микробиоты у новорожденных, поскольку воздействия в критические периоды онтогенеза создают благоприятную почву для отсроченной патологии.

Литература

1. Любасовская, Л. А. Видовой состав госпитальных штаммов условно-патогенных микроорганизмов и их роль в развитии инфекций у новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела : автореф. дис. ... канд. мед.наук / Л. А. Любасовская. – М., 2013. – 25 с.

2. Николаева, И. В. Формирование кишечной микробиоты ребенка и факторы, влияющие на этот процесс / И. В. Николаева, А. Д. Царегородцев, Г. С. Шайхиева // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2018. – № 63 (3). – С. 13–18.

3. Early postnatal life as a critical time window for determination of long-term metabolic health / A. Plagemann [et al.] // Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. – 2012. – Vol. 26. – P. 641–53.

НОВЫЕ И ПЕРЕПРОФИЛИРОВАННЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА В ЛЕЧЕНИИ РИФАМПИЦИН-УСТОЙЧИВОГО ТУБЕРКУЛЕЗА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Скрягина Е.М., Климук Д.А., Ветушко Д.А., Солодовникова В.В., Ильясова Е.В.,
Тышко М.А., Данькова А.В., Глинская Т.Н., Дюсьмикеева М.И.

ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии»,
г. Минск, Беларусь

Актуальность. Возможности применения химиотерапии при рифампицин-устойчивом туберкулезе крайне ограничены и результаты лечения этой формы заболевания остаются крайне низкими. В соответствии с обновленным руководством ВОЗ [1] в настоящее время применение полностью пероральных схем является приоритетным ввиду их большей эффективности и безопасности [2].

Анализ эффективности применения бедаквилина в составе комбинированных схем химиотерапии туберкулеза в Республике Беларусь показал, что применение бедаквилина оказывает благоприятное влияние на успех лечения и на выживаемость пациентов даже в условиях преобладания широкой лекарственной устойчивости [6].

В условиях широкого применения новых и перепрофилированных противотуберкулезных лекарственных средств актуальным является представление странового опыта по данному вопросу.

Цель. Оценка результативности внедрения новых и перепрофилированных лекарственных средств в лечении пациентов с рифампицин-устойчивым туберкулезом в масштабах страновой когорты Республики Беларусь.

Материалы и методы исследования. Проведено ретроспективное когортное исследование внедрения режимов лечения с использованием новых и перепрофилированных лекарственных средств у пациентов с рифампицин-устойчивым туберкулезом, зарегистрированных в Республике Беларусь в 2016-2020 гг.

Результаты. Внедрение новых и перепрофилированных лекарственных средств для лечения рифампицин-устойчивого туберкулеза началось в 2015 г. с применения бедаквилина и продолжилось в 2016 г. применением деламанида в составе комбинированной противотуберкулезной терапии «длинными» курсами, как правило у пациентов с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя. В 2018 г. в Республике Беларусь впервые начали применяться модифицированные полностью пероральные укороченные режимы лечения для вновь выявленных пациентов с туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя, также расширились показания для применения «длинных» курсов. В конце 2020 г. применение модифицированных укороченных режимов было расширено в рамках проведения операционного исследования под патронажем ВОЗ.

Абсолютное количество случаев рифампицин-устойчивого туберкулеза в Республике Беларусь сокращалось с 1933 случаев в 2016 г. до 877 случаев в 2020 г. Доля охвата лечением указанных случаев прогрессивно повышалась с 81% в 2016 г. до 92% в 2020 г. с небольшим снижением (до 87%) в 2019 г.

Вместе с тем, доля охвата лечением случаев рифампицин-устойчивого туберкулеза новыми и перепрофилированными лекарствами нарастала с 8% в 2016 г. до 91% в 2020 г.

Таким образом, наряду со снижением абсолютного количества случаев РУ-ТБ, в Республике Беларусь в 2016-2020 гг. отмечалось как общее увеличение доли охвата лечением указанных пациентов, так и расширение применения новых режимов лечения.

Несмотря на активное внедрение новых режимов лечения, для достижения и закрепления положительных результатов внедрялись дополнительные мероприятия – оказание пациентам социальной поддержки, переход к пациент-ориентированной модели оказания фтизиатрической

помощи, расширение видео-поддерживающего лечения, работа республиканского консилиума по туберкулезу с множественной лекарственной устойчивостью.

Выводы. Республика Беларусь к 2020 г. достигла 91% охвата лечением новыми и перепрофилированными лекарственными средствами пациентов с рифампицин-устойчивым туберкулезом. Применение новых и перепрофилированных лекарственных средств для лечений рифампицин-устойчивого туберкулеза позволило значительно улучшить эффективность лечения. Отмечалась более результативная конверсия мазка мокроты (88,8-93,4%) и более высокая доля зарегистрированных окончательных успешных исходов лечения (74,2%) по сравнению со схемами, не содержащими новых лекарственных средств.

Литература

1. WHO Consolidated Guidelines on Tuberculosis, Module 4: Treatment - Drug-Resistant Tuberculosis Treatment, 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240007048>.

2. Khan, Palwasha Y. All-oral longer regimens are effective for the management of multidrug resistant tuberculosis in high burden settings / Palwasha Y Khan, Molly F Franke, Catherine Hewison et al. // Eur. Respir. J. – 2021 Jun 17;2004345. doi: 10.1183/13993003.04345-2020.

3. Журкин. Д.М. Эффективность применения бедаквилина среди взрослых пациентов с туберкулезом легких с множественной или широкой лекарственной устойчивостью в Республике Беларусь / Д.М. Журкин, Е.М. Скрягина, А.Е. Скрягин // Современные аспекты здоровьесбережения, г. Минск, 23-24 мая 2019 г.: Сб. материалов юбилейной научно-практической конференции с международным участием. – Минск, 2019.

ДЕЛАМАНИД И БЕДАКВИЛИН В ЛЕЧЕНИИ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С МНОЖЕСТВЕННО И ШИРОКО ЛЕКАРСТВЕННО УСТОЙЧИВЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ

Солодовникова В.В.¹, Гуревич Г.Л.¹, Середа Ю.², Авчинко В.П.¹, Климук Д.А.¹, Скрягин А.Е.⁴, Дюсьмикеева М.И.¹, Ветушко Д.А.¹, Сеткина С.Б.³, Черныш И.П.³, Кривошеева Ж.И.⁴, Бабченко И.В.¹, Скрягина Е.М.¹

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии», г. Минск, Беларусь

²Всемирная Организация Здравоохранения, Европейское региональное бюро, Копенгаген, Дания

³РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении», г. Минск, Беларусь

⁴Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь

Актуальность. Туберкулез (ТБ) с лекарственной устойчивостью поражает также детей и подростков. По международным оценкам, ежегодно от 25 000 до 32 000 детей заболевают рифампицин-устойчивым/множественно лекарственно-устойчивым туберкулезом (РУ/МЛУ-ТБ), а у 1 200 из них развивается широко лекарственно-устойчивый туберкулез (ШЛУ-ТБ) [1]. К сожалению, более 95% детей с МЛУ-ТБ или ШЛУ-ТБ не диагностируются и

не проходят лечение, и около 21% могут умереть. К сожалению, нет мировых данных по заболеваемости РУ/МЛУ-ТБ среди подростков [2].

Для повышения эффективности лечения пациентов детского и подросткового возраста с МЛУ/ШЛУ-ТБ, ВОЗ рекомендует применение новых противотуберкулезных лекарственных средств (ПТЛС), таких как бедаквилин и деламамид [3].

Цель. Оценка эффективности и безопасности противотуберкулезных схем лечения, содержащих бедаквилин и/или деламамид, в общенациональной когорте детей и подростков (<18 лет) с МЛУ/ШЛУ-ТБ в Беларуси.

Материалы и методы. В исследование были включены дети и подростки (в возрасте до 18 лет) с РУ/МЛУ-ТБ и ШЛУ-ТБ, начавшие лечение бедаквилином и/или деламамидом, в Беларуси в рамках Национальной программы борьбы с туберкулезом (НПТ) в период с сентября 2015 г. по сентябрь 2019 г. Мы включали как бактериологически подтвержденных пациентов, так и пациентов с клиническим диагнозом (т.е. детей, с подтвержденным МЛУ/ШЛУ контактом).

Лечение назначалось Республиканским консилиумом по лечению МЛУ-ТБ на основе модели лекарственной чувствительности. Схемы лечения основывались на включение как минимум четырех эффективных препаратов с применением бедаквилина и/или деламаида, фторхинолонов (при отсутствии устойчивости), линезолида, клофазимина и циклосерина, в качестве основных препаратов. Инъекционные препараты второго ряда (капреомицин и амикацин), имипенем и амоксициллин/клавулановая кислота и другие препараты были добавлены к схеме лечения в том случае, когда невозможно было составить схему из препаратов основного списка.

Ответ на лечение оценивался ежемесячно путем проведения микроскопии мазка, посева мокроты на плотные питательные среды и клинического обследования. Рентгенография органов грудной клетки выполнялась каждые три месяца во время интенсивной фазы и каждые шесть месяцев во время фазы продолжения. Анализы крови проводились ежемесячно для диагностики и своевременного лечения нежелательных явлений, включая электролитные нарушения, анемию, тромбоцитопению, лейкопению, тесты функции печени и почек. Электрокардиография (ЭКГ) выполнялась каждые две недели в течение первого месяца и ежемесячно до конца терапии для выявления удлинения QTcF интервала (корректированного по Фредерику) и аритмий.

Степень тяжести НЯ оценивалась в соответствии с общими критериями терминологии для НЯ (СТСАЕ). НЯ были обобщены по типу события, тяжести и серьезности; времени начала и продолжительности НЯ; ведению НЯ и их исходу. Мы рассчитали частоту серьезных НЯ, разделив количество событий на количество человеко-месяцев наблюдения.

Результаты. Всего в исследование было включено 40 детей и подростков. Средний возраст пациентов составил 15,6 (СО 1,7) года и 55% составляли женщины (таблица 1). Хотя употребление алкоголя пациентами зафиксировано не было, 15% из них были курильщиками табака. Около трети

(30%) детей и подростков не имели в анамнезе тесного контакта с больными ТБ. Большинство пациентов (55%) имели сопутствующую патологию. Только два пациента были ВИЧ-положительными, и оба получали АРТ и ко-тримоксазол. Большинство пациентов (93%) болели туберкулезом легких и имели бактериологически подтвержденный туберкулез (90%). Половина пациентов (20, 50%) страдала ШЛУ-ТБ, а устойчивость к фторхинолонам или инъекционным препаратам второго ряда наблюдалась у 15 пациентов (38%). Всего 20 пациентов (50%) получали деламанид, 21 (53%) получали бедаквилин, а один получал бедаквилин и деламанид одновременно. Все пациенты получали бедаквилин и/или деламанид в течение 24 недель, за исключением одного пациента с ШЛУ-ТБ, который получал деламанид на протяжении всего периода лечения (18 месяцев), и двух пациентов с ШЛУ-ТБ, которые получали бедаквилин в течение восьми месяцев.

НЯ были зарегистрированы у всех пациентов (Таблица 2). Количество НЯ на пациента варьировалось от 3 до 12 со средним значением 5 (IQR: 3-8). Всего было зарегистрировано 224 НЯ, большинство из которых, (76%) имели легкую степень тяжести. Только 10 НЯ (4,5%) были классифицированы как тяжелые, а одно НЯ было сочтено опасным для жизни. В общей сложности 7 (3%) НЯ были классифицированы как «серьезные». Модификация схемы лечения туберкулеза была произведена в 20 случаях (9%) – в 14 случаях потребовалось снижение дозы, в пяти случаях потребовалось временное прекращение приема препарата и только в одном случае потребовалось окончательное прекращение приема подозреваемого препарата (линезолид был отменен после развития полинейропатии). Наиболее частыми НЯ были нарушения со стороны крови и лимфатической системы, такие как анемия, эозинофилия и тромбоцитопения (n = 62, 28%). За ними следовали сердечно-сосудистые нарушения, такие как удлинение интервала QTcF (корректированного по Фредериду) и другие кардиологические нарушения (n = 43, 19%). Далее шли гепатобилиарные нарушения (n = 34, 15%).

Частота возникновения НЯ была максимальной в течение первых двух месяцев лечения, (рисунок 2) и снижалась по мере продолжения лечения. Большинство НЯ (94%) разрешились до окончания лечения. Среднее время (IQR) до разрешения НЯ составило 84 (IQR: 31–177) дня.

Все пациенты с положительным посевом перед началом лечения (n=34), достигли конверсии посевов в течение первых шести месяцев лечения (таблица 3). Среднее время конверсии культуры составило 1,1 месяца (IQR: 0,9–1,6; диапазон: 0,4–2,8). Все 40 пациентов успешно завершили лечение. Не было обнаружено смертей, неудач или потерь для последующего наблюдения. Среди тех, кто соответствовал критериям отбора и был оценен через шесть и 12 месяцев после лечения, рецидивов выявлено не было.

Это первое исследование в Беларуси, в котором сообщается об эффективности (окончательные исходы лечения и рецидивы после лечения) и безопасности схем, содержащих бедаквилин и деламанид, у детей и подростков с РУ/МЛУ-ТБ и ШЛУ-ТБ. Это самая большая когорта детей и подростков, о

которых когда-либо сообщалось во всем мире, что дополняет ограниченные данные по этому вопросу.

Выводы. Схемы лечения были высокоэффективными – со 100% конверсией культуры в течение первых трех месяцев лечения, 100% успехом лечения в конце лечения и отсутствием рецидивов через 6 и 12 месяцев после лечения. Эти результаты являются многообещающими, учитывая тот факт, что эта когорта лечилась в программных условиях и почти 90% пациентов имели ШЛУ-ТБ или пре-ШЛУ-ТБ на исходном уровне. Схемы безопасны и хорошо переносятся. Хотя все пациенты имели НЯ, большинство НЯ были легкими и не требовали вмешательства.

Литература

1. Dodd, P.J. Global burden of drug-resistant tuberculosis in children: a mathematical modelling study / Dodd P.J., Sismanidis C., Seddon J.A. // *Lancet Infect. Dis.* – 2016; 16:1193–201.
2. García-Basteiro, A.L. Adolescents and young adults: a neglected population group for tuberculosis surveillance / García-Basteiro A.L., Schaaf H.S., Diel R., et al. // *Eur. Respir. J.* – 2018; 51.
3. Harausz, E.P. New and repurposed drugs for pediatric multidrug-resistant tuberculosis. practice-based recommendations / Harausz EP, Garcia-Prats AJ, Seddon JA, et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* –2017; 195:1300–10.

ОПЫТ ВКЛЮЧЕНИЯ НОВЫХ И ПЕРЕПРОФИЛИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В СХЕМУ ЛЕЧЕНИЯ ТУБЕРКУЛЕЗА С ШИРОКОЙ И ПРЕ-ШИРОКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ ВОЗБУДИТЕЛЯ

*Солодовникова В.В.¹, Гуревич Г.Л.¹, Ветушко Д.А.¹, Климук Д.А.¹, Скрыгин А.Е.²,
Дюсьмикеева М.И.¹, Глинская Т.Н.¹, Апанасевич Т.О.¹, Скрыгина Е.М.¹*

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии»,
г. Минск, Беларусь

² Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь

Актуальность. Возможности применения химиотерапии при множественно лекарственно-устойчивом/широко лекарственно-устойчивом туберкулезе (МЛУ/ШЛУ-ТБ) крайне ограничены и результаты лечения этой формы заболевания остаются крайне низкими [1]. Существенная роль в повышении эффективности химиотерапии у лиц с резистентным туберкулезом принадлежит внедрению в практику новых противотуберкулезных лекарственных средств (ПТЛС). В области разработки лекарственных средств, для лечения резистентного туберкулеза произошли изменения и в настоящее время достигнут большой прогресс в мире. Были одобрены два новых ПТЛС (бедаквилин и деламамид) для лечения МЛУ/ШЛУ-ТБ [2]. Бедаквилин (Bdq) является первым, принципиально новым лекарственным средством для лечения туберкулеза за последние 40 лет. Вторым новым ПТЛС является деламамид (Dlm) – производное нитродигидроимидазооксазола. Механизм его действия основан на подавлении синтеза клеточной стенки МТБ. Dlm высокоактивен в

отношении внутриклеточных МБТ в макрофагах. Лекарственное средство было одобрено Европейским агентством по лекарственным средствам в 2013 г. для лечения пациентов с МЛУ/ШЛУ-ТБ [3]. Vdq и Dlm поступили в Республику Беларусь в рамках проекта международной технической помощи для лечения пациентов с ШЛУ- и пре-ШЛУ-ТБ согласно рекомендациям ВОЗ по лечению лекарственно-устойчивого туберкулеза.

Цель. Сравнение эффективности лечения пациентов с пре-ШЛУ- и ШЛУ-ТБ на новых схемах терапии.

Материалы и методы. В исследование было включено 80 пациентов ШЛУ-ТБ и пре-ШЛУ-ТБ, начавших лечение Vdq и/или Dlm, в Республике Беларусь в период с июля 2018 г. по июнь 2019 г. Исследование проводилось в Государственном учреждении «Республиканском научно-практическом центре пульмонологии и фтизиатрии».

В контрольную группу было набрано 80 пациентов, получавших лечение без использования Vdq и/или Dlm в схемах лечения.

Назначение схем лечения пациентам с ШЛУ и пре-ШЛУ-ТБ проводилось с учетом решения республиканского консилиума по МЛУ-ТБ с использованием новых и перепрофилированных ЛС согласно рекомендациям ВОЗ. Одним из основных принципов составления схем химиотерапии, являлось назначение как минимум 4-х эффективных ПТЛС второго ряда, в том числе фторхинолонов, при сохраненной к ним устойчивости. Большее количество ПТЛС назначается при невозможности подбора 4-х эффективных ЛС в схему лечения. Курс химиотерапии условно был разделен на две части: интенсивная фаза, которая включала Vdq и/или Dlm на протяжении 5,5 месяцев и инъекционный препарат или имипенем/циластатин (Imp), и фаза продолжения, когда отменялись новые ПТЛС, инъекционное ЛС и Imp. Интенсивная фаза, как правило, составляла от 6 до 8 месяцев. При необходимости и невозможности подобрать 4 эффективных ПТЛС на фазу продолжения, Vdq и Dlm могли назначаться на весь курс лечения.

Промежуточные результаты включали конверсию мокроты через шесть месяцев (определяемую как два последовательных отрицательных результата посева, полученные с интервалом не менее 30 дней) и время до конверсии мокроты. Окончательные исходы лечения были классифицированы как успешные (излечение и лечение завершено) и безуспешные (смерть, потеря для последующего наблюдения, неудача).

Результаты. Из 80 пациентов I группы, получавших лечение, у двоих была зарегистрирована неудача на 8 месяце лечения. В обоих случаях к неудаче в лечении привел нерегулярный прием ПТЛС, что привело к расширению спектра устойчивости. У 5 пациентов была зарегистрирована потеря для наблюдения. Прекращение приема препаратов произошло после 4-9 месяца приема ПТЛС. У 1 пациента зарегистрирована смерть от других причин.

У пациентов I группы исследования, получающих лечение более 6 месяцев (80 человек), абациллирование по результатам посева (на плотных питательных средах) наступило в 97,5% случаев, в отличие от II группы – 81%

($\chi^2=11,123$; $p<0,001$). У пациентов, которые были бациллярными скопически, абациллирование в I группе наступило в 100% случаев, в отличие от контрольной группы – 70% ($\chi^2=4,431$; $p<0,05$). При этом основная масса пациентов I группы была абациллирована после 1 месяца лечения (85%), как в группе впервые выявленных (87%), так и в группе ранее леченых (83,5%). В отличие от пациентов II группы, где после 1 месяца лечения абациллирование наступило в 42,5% ($\chi^2=31,264$; $p<0,001$).

Положительная рентгенологическая динамика наблюдалась чаще в I группе исследования и составила 86%, по сравнению с II группой – 70% ($\chi^2=6,181$; $p<0,013$), как среди впервые выявленных пациентов – 92% и 76% ($\chi^2=3,909$; $p<0,005$), так и среди ранее леченых – 86% и 70% ($\chi^2=4,803$; $p<0,005$) соответственно.

Процент излеченных пациентов был выше в I группе исследования, по сравнению с II группой, и составил 78%. В II группе этот показатель составил всего 47% ($\chi^2=15,36$; $p>0,05$). Процент успешного завершения лечения в I группе составил 86%, а во II – 66% ($\chi^2=8,83$; $p>0,05$). Так же в I группе было меньше пациентов с неудачей в лечении – 3% и 14% ($\chi^2=7,532$; $p<0,01$), соответственно. Количество пациентов, досрочно прервавших курс лечения в I группе, также было меньше – 10% и 16%, соответственно. В I группе был зафиксирован 1% смертельных исходов, в контрольной – 4%. В I группе у впервые выявленных пациентов успех лечения составил 87% в отличие от II группы, где этот показатель составил только 73%. Процент излеченных составил 76% по сравнению со II группой – 47% ($\chi^2=7,84$; $p>0,05$). Так же в I группе исследования было меньше пациентов с неудачей в лечении – 3% и 14%, соответственно. Количество пациентов, досрочно прервавших курс лечения в I группе исследования, также было меньше – 5% и 15%, соответственно.

У пациентов I группы исследования, ранее получавших противотуберкулезное лечение, успешное лечение наблюдалось в 86% в отличие от II группы, где этот показатель составил только 55% ($\chi^2=9,1$; $p>0,05$). Процент излеченных составил 78% по сравнению со II группой – 48% ($\chi^2=6,64$; $p>0,05$). Неудачи в лечении и смертельных исходов в I группе зафиксировано не было, в отличие от контрольной группы, где эти показатели составили 20% ($\chi^2=9,1$; $p>0,05$) и 8% соответственно. Потеря для наблюдения в этих группах составила 14% и 20%.

Выводы. Несмотря на непродолжительное время наблюдения за пациентами, закончившими лечение на апробируемых схемах (весь курс лечения составлял от 18 до 22 месяцев) можно сказать об очень высокой эффективности новых ПТЛС для пациентов с ШЛУ-ТБ и пре-ШЛУ-ТБ.

Сроки абациллирования пациентов в I группе исследования были короче, чем во II группе, а частота абациллирования выше. Так процент абациллирования в I группе исследования составил 97,5%, а во II группе – 81% ($\chi^2=11,123$; $p<0,001$). При этом количество пациентов абациллированных после первого месяца лечения так же был выше в I группе исследования – 85% и

42,5% ($\chi^2=31,264$; $p<0,001$). Положительная рентгенологическая динамика наблюдалась чаще в I группе исследования и составила 86%, по сравнению со II группой – 70% ($\chi^2=6,181$; $p<0,013$).

Процент излеченных пациентов был выше в I группе и составил 72%. Во II группе этот показатель составил 47% ($\chi^2=15,36$; $p>0,05$). Процент успешного лечения также был выше в I группе – 88% и 66% ($\chi^2=8,83$; $p>0,05$) соответственно. Так же в I группе исследования было меньше пациентов с неэффективным курсом лечения – 4% и 14%, соответственно.

Литература

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2019. Geneva: World Health Organization; 2019:1–297. Available from: https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.
2. Nicola Magrini, Jane Robertson, Gilles Forte, Bernadette Cappello, Lorenzo P Moja, Kees de Joncheere & Marie-Paule Kieny; Tough decisions on essential medicines in 2015; Bulletin of the World Health Organization 2015; 93:283-284. doi: <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.15.154385>.
3. Drug Discovery & Development. EMA Recommends Two New Tuberculosis Treatments. November 22, 2013.

КОНКУРЕНТОСПОСОБНОСТЬ ЭКСТРЕМАЛЬНО-АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* И *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Танальский Д.В., Пиляк А.В.

Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Актуальность. Устойчивость к антибиотикам обычно имеет определенную биологическую стоимость для микроорганизмов, которая может проявляться в замедлении темпов роста, снижении конкурентоспособности и вирулентности антибиотикорезистентных штаммов [2, 20]. Биологическая стоимость препятствует интенсивному накоплению антибиотикорезистентных штаммов в бактериальных популяциях, главным образом в периоды существования бактерий в среде, свободной от антибиотика – например, после прекращения приема антибактериального лекарственного средства или во время нахождения бактерий во внешней среде [7]. Когда селективное давление антибиотика отсутствует, чувствительные к антибиотикам штаммы конкурируют с резистентными и постепенно вытесняют их, например, за счет более высоких темпов роста. Показано, что время, необходимое для сокращения в микробной популяции резистентных штаммов, обратно пропорционально биологической стоимости резистентности [1, 13]. На этих фактах основывается концепция разумного использования антибиотиков: сокращение применения антибиотиков в надежде на восстановление у бактерий чувствительности к ним [9]. Действительно, во многих эпидемиологических исследованиях было показано, что сокращение использования антибиотиков часто приводило к сокращению распространенности резистентных штаммов, но редко полностью устраняло их [5, 17, 18].

Биологическая стоимость антибиотикорезистентности и ее влияние на патогенность и вирулентность микроорганизмов является предметом повышенного интереса. Биологическая стоимость значительно варьирует и зависит от большого количества разнообразных факторов, важнейшим из которых является основной генетический механизм, приводящий к развитию антибиотикорезистентности [1, 13]. Например, мутационная устойчивость к карбапенемам у энтеробактерий, связанная с изменениями пориновых белков, сопровождается значительным снижением жизнеспособности [16]. Устойчивость к аминогликозидам может изменить структуру рибосомы и таким образом замедлить процессы биосинтеза белка [8]. Устойчивость к фторхинолонам у *Pseudomonas aeruginosa* приводит к нарушениям подвижности [15]. Исследования с *Salmonella typhimurium* показали, что мутанты с множественной лекарственной устойчивостью (MDR) были авирулентными для мышей. Однако у авирулентных резистентных мутантов быстро накапливались множественные компенсаторные мутации, которые восстанавливали вирулентность, не влияя на уровень резистентности [4].

Горизонтальный перенос генов резистентности также оказывает влияние на вирулентность и жизнеспособность бактерий. Введение новых генов в уже существующий, хорошо сбалансированный генотип может стать источником генетического конфликта. Биологическая стоимость привнесения новых генов антибиотикорезистентности может быть связана с дополнительными метаболическими затратами на их репликацию и экспрессию, а также с взаимодействиями между белками, кодируемыми мобильным генетическим элементом и собственным геномом клетки, которые могут приводить к цитотоксическим эффектам [3, 19, 20].

Биологическая стоимость устойчивости к карбапенемам, связанной с продукцией карбапенемаз, до конца не понята. Ряд исследований были посвящены поиску причин глобальной диссеминации карбапенемаз, быстро распространяющихся среди грамотрицательных бактерий различных видов, существующих как во внутрибольничной среде в условиях селективного давления антибиотиков, так и в окружающей среде. Предполагалась сниженная биологическая стоимость устойчивости к карбапенемам или приобретение дополнительных факторов патогенности в составе плазмид, несущих гены карбапенемаз [11]. Количество исследований, изучающих влияние присутствия blaNDM, blaKPC и других генов карбапенемаз на жизнеспособность, конкурентоспособность и патогенность бактерий, очень ограничено. В работе S. Gottig и соавт. на изогенных штаммах *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* показано, что присутствие плазмиды, несущей blaNDM, не влияет на кинетику бактериального роста, патогенность и цитотоксичность, но снижает конкурентоспособность карбапенеморезистентных штаммов по отношению к изогенным бесплазмидным штаммам [10]. Электропорация плазмид pG12-KPC-2 и pG06-VIM-1 от карбапенеморезистентных *K.pneumoniae* уропатогенным *E.coli* различных геногрупп незначительно снижало конкурентоспособность последних в парных экспериментах с исходными изогенными штаммами [12].

Вместе с тем, экспрессия blaVIM-2 у *Salmonella typhimurium* сопровождалась значительным снижением скорости роста, подвижности и утратой способности к инвазии в эпителиальные клетки по сравнению с изогенным штаммом [14].

Таким образом, биологическая стоимость препятствует интенсивному накоплению антибиотикорезистентных штаммов в бактериальных популяциях за счет снижения их конкурентоспособности по отношению к антибиотикочувствительным штаммам. Однако биологическая стоимость значительно варьирует и зависит от большого количества разнообразных факторов, важнейшим из которых является основной генетический механизм, приводящий к развитию антибиотикорезистентности.

Цель. Сравнительная оценка конкурентоспособности антибиотикочувствительных и экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *P.aeruginosa* и *K.pneumoniae*.

Материалы и методы исследования. Из рабочей коллекции отобрано 4 клинических изолята микроорганизмов с известными механизмами антибиотикорезистентности, в их числе 2 штамма *P.aeruginosa* (оба – продуценты металло-бета-лактамазы VIM) и 2 штамма *K.pneumoniae* (ко-продуценты карбапенемаз NDM+OXA-48 и KPC+OXA-48). Все штаммы были выделены в ходе многоцентровых исследований по мониторингу антибиотикорезистентности в Республике Беларусь. В качестве антибиотикочувствительных контролей в исследование включены штаммы из Американской коллекции типовых культур (ATCC) *P.aeruginosa* ATCC 27853 и *K.pneumoniae* ATCC 700603.

Для изучения конкурентных взаимоотношений между экстремально-антибиотикорезистентными (extensively drug resistance, XDR) штаммами и антибиотикочувствительными штаммами из коллекции ATCC выполняли прямые парные эксперименты с одномоментным внесением в бульонную питательную среду двух конкурирующих штаммов в равных концентрациях. Во время инкубации выполнялась количественная оценка содержания в смеси каждого из конкурирующих штаммов.

Предварительная инкубация каждого из штаммов выполнена в течение 12 часов в сердечно-мозговом бульоне (BD, США) в шейкере-инкубаторе при 37°C с орбитальным перемешиванием 180 об. / мин. Полученные ночные бульонные культуры доводили до оптической плотности 0,5 МакФарланд (10^8 микробных клеток/мл) и вносили в предварительно подогретый до 37°C триптон-соевый бульон (HiMedia, Индия). Одновременно в пробирки вносились суспензии двух конкурирующих штаммов (антибиотикорезистентного и антибиотикочувствительного) в соотношении 1:1. Стартовая концентрация каждого из штаммов в среде составила $5 \cdot 10^4$ микробных клеток/мл. Всего подобрано 4 пары, информация о них представлена в таблице 1.

Инкубация выполнялась в течение 192 ч (8 суток) на шейкере-инкубаторе ES-20 (Biosan, Латвия) при 35°C с орбитальным перемешиванием 180 об./мин. Через 24, 48, 72, 96, 144 и 192 ч от начала инкубации смеси разбавляли свежим

триптон-соевым бульоном, доводя концентрацию микроорганизмов до 10^8 микробных клеток/мл (0,5 МакФарланд). Отбирали из разбавленных смесей по 100 мкл бульонной культуры для количественного высева, и продолжали инкубацию.

Таблица 1. – Состав пар микроорганизмов для оценки конкурентоспособности

№ смеси	Антибиотикочувствительный микроорганизм в смеси	Антибиотикорезистентный микроорганизм в смеси и его характеристика
1	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853 (антибиотикочувствительный)	<i>P.aeruginosa</i> БП-082 (МБЛ VIM, ST235)
2	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853 (антибиотикочувствительный)	<i>P.aeruginosa</i> БП-095 (МБЛ VIM, ST235)
3	<i>K.pneumoniae</i> ATCC 700603 (продуцент бета-лактамазы расширенного спектра)	<i>K.pneumoniae</i> 46962 (карбапенемаза NDM+OXA-48, устойчивость к колистину)
4	<i>K.pneumoniae</i> ATCC 700603 (продуцент бета-лактамазы расширенного спектра)	<i>K.pneumoniae</i> 2564 (карбапенемаза KPC+OXA-48, устойчивость к колистину)

Отобранные образцы последовательно разводили в изотоническом растворе хлорида натрия в 50 000 раз, делали высевы 50 мкл разведений на агар Мюллер-Хинтон (МХА) и МХА с добавлением антибиотика (селективную среду для подавления роста антибиотикочувствительных штаммов). Для смесей 1-3 использовали МХА с 4 мг/л гентамицина, для смеси 4 – МХА с 4 мг/л левофлоксацина. В предварительном эксперименте было установлено, что используемые антибиотики в приведенных концентрациях подавляют рост контрольных штаммов ATCC и не препятствуют росту исследуемых антибиотикорезистентных штаммов. Посевы инкубировали в течение 18 ч при 35°C, проводили подсчет колоний на МХА и МХА с антибиотиком и рассчитывали процентное содержание антибиотикочувствительного и антибиотикорезистентного штаммов в смеси.

Индекс конкуренции (КИ) рассчитывали, как соотношение финальных концентраций антибиотикочувствительного и XDR штаммов в смеси.

Результаты. Отмечена низкая конкурентоспособность XDR штаммов *K.pneumoniae*, полное их вытеснение из смесей антибиотикочувствительным штаммом *K.pneumoniae* ATCC 700603 происходило через 96 ч (смесь 4) и 144 ч (смесь 3) инкубации (рисунок 1). Можно предположить, что наблюдаемое широкое распространение множественно- и экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *K.pneumoniae* в госпитальной среде не связано с высокой конкурентоспособностью антибиотикорезистентных штаммов, но может поддерживаться массивным использованием антибиотиков, создающим дополнительные конкурентные преимущества за счет вытеснения антибиотикочувствительных штаммов бактерий.

Напротив, карбапенемазопродуцирующие штаммы *P.aeruginosa* с множественной устойчивостью к антибиотикам успешно конкурировали с чувствительным контрольным штаммом. Концентрация *P.aeruginosa* БП-082

через 192 ч инкубации превышала концентрацию антибиотикочувствительного контрольного штамма *P.aeruginosa* ATCC 27853 в 4,6 раза (КИ 4,6). Штамм *P.aeruginosa* БП-095 полностью вытеснил из смеси антибиотикочувствительный контрольный штамм уже через 96 ч инкубации.

Исследуемые штаммы *P.aeruginosa* принадлежат к клональному комплексу CC235, который в 2000-е годы интенсивно распространялся на территории многих стран мира, вытесняя штаммы *P.aeruginosa* других клональных комплексов [6]. Выявленная в настоящем исследовании высокая конкурентоспособность антибиотикорезистентных штаммов *P.aeruginosa* ST235 может объяснить широкую глобальную экспансию штаммов клонального комплекса CC235.

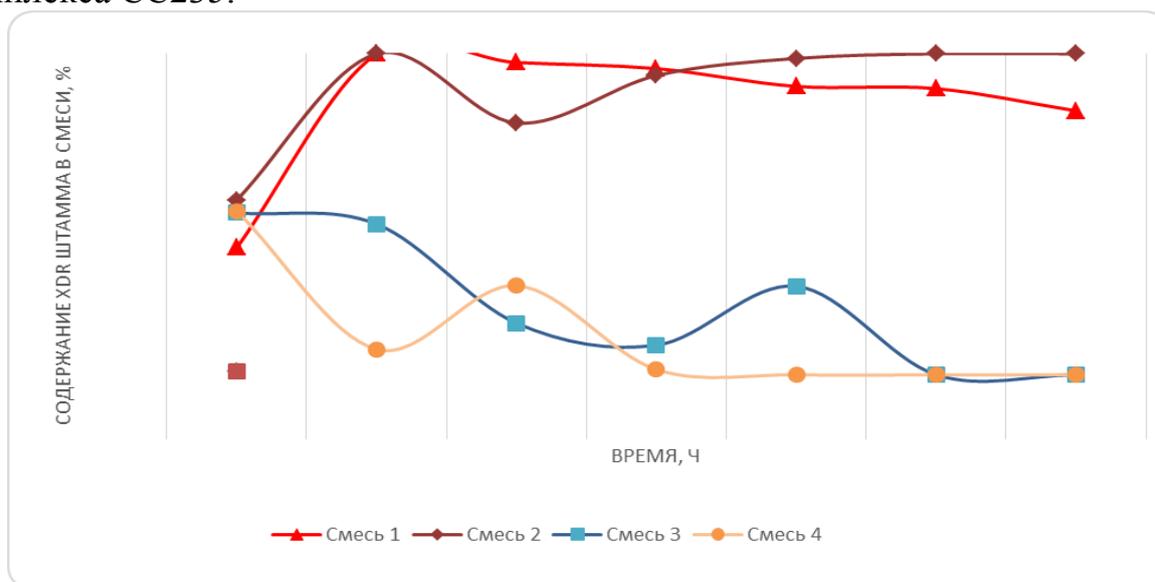


Рисунок 1. – Изменение содержания антибиотикорезистентных штаммов в смесях во время эксперимента

Выводы. Множественная антибиотикорезистентность у штаммов *K.pneumoniae* сопряжена с их низкой конкурентоспособностью в отношении антибиотикочувствительных штаммов. Выявленная высокая конкурентоспособность карбапенемазопродуцирующих штаммов *P.aeruginosa* ST235 объясняет наблюдаемую в 2000-х годах широкую глобальную экспансию антибиотикорезистентных штаммов клонального комплекса CC235 и вытеснение представителей других клональных комплексов.

Литература

1. Andersson, D. I. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? / D. I. Andersson, D. Hughes // Nat. Rev. Microbiol. – 2010. – Vol. 8. – P. 260–271.
2. Andersson, D. I. The biological cost of mutational antibiotic resistance: any practical conclusions? / D. I. Andersson // Curr. Opin. Microbiol. – 2006. – Vol. 9. – P. 461–465.
3. Baltrus, D. A. Exploring the costs of horizontal gene transfer / D. A. Baltrus // Trends Ecol. Evol. – 2013. – Vol. 28. – P. 489–495.
4. Bjorkman, J. Virulence of antibiotic-resistant *Salmonella typhimurium* / J. Bjorkman, D. Hughes, D. I. Andersson // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – Vol. 95. – P. 3949–3953.
5. Enne, V. I. Reducing antimicrobial resistance in the community by restricting prescribing: can it be done? / V. I. Enne // J. Antimicrob. Chemother. – 2010. – Vol. 65. – P. 179–182.
6. Global emergence of the widespread *Pseudomonas aeruginosa* ST235 clone

- / P. Treepong [et al.] // Clin. Microbiol. Infect. – 2018. – Vol. 24. – 258–266.
7. Hennequin, C. Correlation between antimicrobial resistance and virulence in *Klebsiella pneumoniae* / C. Hennequin, F. Robin // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2016. – Vol. 35. – P. 333–341.
 8. Holberger, L. E. Ribosomal protein S12 and aminoglycoside antibiotics modulate A-site mRNA cleavage and transfermessenger RNA activity in *Escherichia coli* / L. E. Holberger, C. S. Hayes // J. Biol. Chem. – 2009. – Vol. 284. – P. 32188–32200.
 9. Impact of antimicrobial stewardship in critical care: a systematic review / R. Kaki [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. – 2011. – Vol. 66. – P. 1223–1230.
 10. Impact of blaNDM-1 on fitness and pathogenicity of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* / S. Gottig [et al.] // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2016. – Vol. 47. – P. 430–435.
 11. Lee, C. R. Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods / C. R. Lee [et al.] // Front. Microbiol. – 2016. – Vol. 7. – Art. 895.
 12. Low biological cost of carbapenemase-encoding plasmids following transfer from *Klebsiella pneumoniae* to *Escherichia coli* / M. C. Di Luca // J. Antimicrob. Chemother. – 2017. – Vol. 72. – P. 85–89.
 13. Melnyk, A. H. The fitness costs of antibiotic resistance mutations / A. H. Melnyk, A. Wong, R. Kassen // Evol. Appl. – 2015. – Vol. 8. – P. 273–283.
 14. Metallo- β -Lactamases in clinical *Pseudomonas* isolates in Taiwan and identification of VIM-3, a novel variant of the VIM-2 enzyme / J. J. Yan [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2001. – Vol. 45. – P. 2224–2228.
 15. Mutation of *nfxB* causes global changes in the physiology and metabolism of *Pseudomonas aeruginosa* / H. G. Stickland [et al.] // J. Proteome Res. – 2010. – Vol. 9. – P. 2957–2967.
 16. Pages, J.-M. The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria / J.-M. Pages, C. E. James, M. Winterhalter // Nat. Rev. Microbiol. – 2008 – Vol. 6. – P. 893–903.
 17. Retrospective evidence for a biological cost of vancomycin resistance determinants in the absence of glycopeptides selective pressures / P. J. Johnsen [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. – 2011. – Vol. 66. – P. 608–610.
 18. Salyers, A. A. Why are antibiotic resistance genes so resistant to elimination? / A. A. Salyers, C. F. Amabile-Cuevas // Antimicrob. Agents Chemother. – 1997. – Vol. 41. – P. 2321–2325.
 19. San Millan, A. Interactions between horizontally acquired genes create a fitness cost in *Pseudomonas aeruginosa* / A. San Millan, M. Toll-Riera, Q. Qi, R. C. MacLean // Nature Communications. – 2015. – Vol. 6. – Art. 6845.
 20. Vogwill, T. The genetic basis of the fitness costs of antimicrobial resistance: a meta-analysis approach / T. Vogwill, R. C. MacLean // Evol. Appl. – 2015. – Vol. 8. – P. 284–295.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВТОРИЧНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19

Черняк Л.К.¹, Волосач О.С.²

¹УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница», Беларусь

²Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь

Кафедра инфекционных болезней

Актуальность. Коронавирусная инфекция COVID-19 может predispose к развитию вторичных бактериальных поражений дыхательных путей. Респираторные вирусы поражают дыхательные пути и

нарушают регуляцию как врожденного, так и приобретенного иммунного ответа, что, в свою очередь, способствует проникновению бактерий в обычно стерильные участки дыхательных путей, их адгезии на слизистых и последующему размножению [2]. Возбудителями вторичных бактериальных инфекций обычно являются представители резидентной и транзиторной микробной флоры, которые во многих случаях характеризуется антибактериальной резистентностью [1]. Современные классификации пневмоний предусматривают обязательное установление этиологии, поскольку этиологический диагноз во многом определяет течение болезни и наиболее рациональный вид ее лечения [3]. Поэтому изучение этиологической структуры вторичных бактериальных пневмоний у пациентов с инфекцией COVID-19 является актуальным.

Цель. Определить этиологическую структуру вторичных бактериальных пневмоний у пациентов с инфекцией COVID-19 стационаров г. Гродно на основании результатов регионального микробиологического мониторинга, проведенного с апреля 2020 года по август 2021 года.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования явились пациенты с инфекцией COVID-19, осложненной вторичной бактериальной пневмонией, проходившие лечение в стационарах г. Гродно с апреля 2020 года по август 2021 года. Для микробиологического исследования в лабораторию учреждения здравоохранения «Гродненская областная инфекционная клиническая больница» поступал биологический материал из 5 стационаров городского типа г. Гродно: УЗ «Гродненская областная клиническая больница медицинской реабилитации», УЗ «Городская клиническая больница № 2», УЗ «Городская клиническая больница № 3», УЗ «Городская клиническая больница № 4», УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница», где проходили стационарное лечение пациенты с инфекцией COVID-19. Микробиологический мониторинг и верификация возбудителей осуществлялись на базе бактериологической лаборатории УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница» (центр коллективного пользования).

Микробиологическому исследованию подлежала мокрота и бронхоальвеолярный лаваж, полученные у пациентов с инфекцией COVID-19. Для культивации микроорганизмов использовались среды российского производства: среда Эндо – для выделения энтеробактерий, желточно-солевой агар – для выделения стафилококков, кровяной агар – для выделения стрептококков и некоторых других микроорганизмов. Забор биологического материала и идентификация выделенных возбудителей проводились по классическим микробиологическим методикам. Микробиологический мониторинг выделенных культур проводился с помощью аналитической компьютерной программы WHONET (США).

Статистическая обработка полученных цифровых данных производилась с использованием программ Statistica 10.0, Excel 2010. В качестве уровня статистической значимости принято значение $p < 0,05$.

Результаты. В указанный период времени из отделяемого нижних дыхательных путей пациентов, проходивших стационарное лечение в учреждениях здравоохранения г. Гродно с диагнозом инфекцией COVID-19, пневмония, были выделены 122 культуры микроорганизмов. Этиологическая структура вторичных бактериальных пневмоний у пациентов с инфекцией COVID-19 представлена на рисунке 1.

Как следует из представленного рисунка, видовой спектр возбудителей вторичных бактериальных пневмоний у пациентов с инфекцией COVID-19 был представлен как грамотрицательными, так и грамположительными бактериями.

Среди грамотрицательных возбудителей вторичных бактериальных пневмоний у пациентов с инфекцией COVID-19 лидирующую этиологическую роль занимала *Klebsiella pneumoniae*, которой было выделено 27 штаммов, что составило 22,1% от всех выделенных возбудителей и достоверно превышало количество других грамотрицательных микроорганизмов ($p < 0,05$). Среди других представителей семейства энтеробактерий были выделены 12 штаммов (9,8% от всех выделенных возбудителей) *Escherichia coli* и в единичном случае был выделен *Enterobacter cloacae*. Среди грамотрицательных неферментирующих бактерий были идентифицированы 10 штаммов *Pseudomonas aeruginosa* (8,2%) и 8 штаммов *Acinetobacter baumannii* (6,6% от всех выделенных возбудителей).

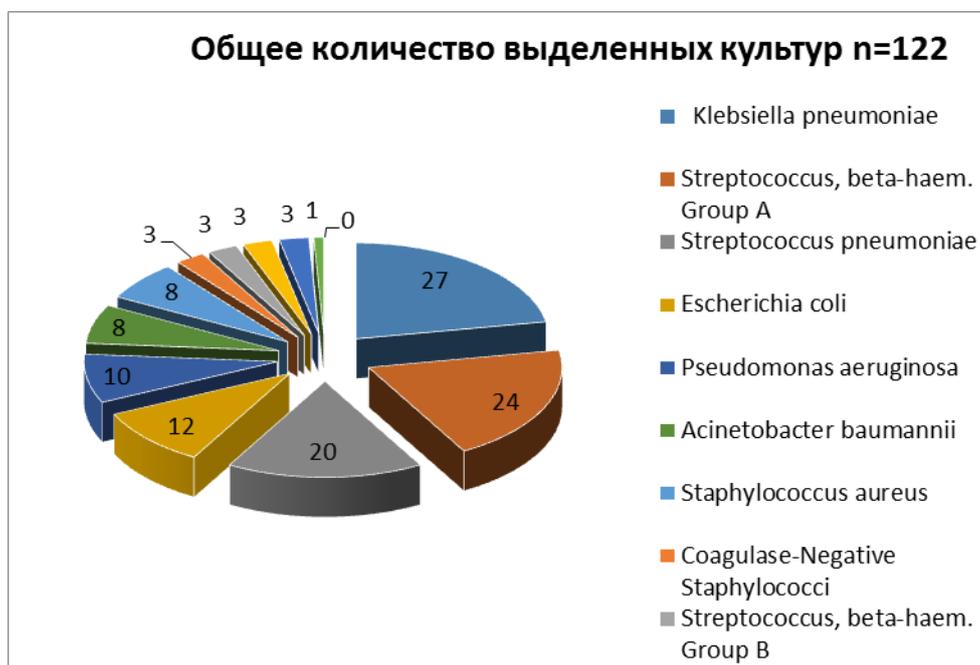


Рисунок 1. – Этиологическая структура вторичных бактериальных пневмоний у пациентов с инфекцией COVID-19

Среди грамположительных микроорганизмов преобладающими возбудителями вторичных бактериальной пневмоний у пациентов с инфекцией COVID-19 явились стрептококки. Среди представителей стрептококков β-гемолитического стрептококка группы А было выделено 24 штамма, что составило 19,7% от всех выделенных возбудителей. Количество *Streptococcus*

pneumonia составило 20 клинических изолятов (16,4% от всех выделенных возбудителей). В единичных наблюдениях высевался β -гемолитический стрептококк группы В, которого было идентифицировано 3 штамма (2,5%). Среди стафилококков были выделены 8 клинических изолятов *S.aureus* (6,6% от всех выделенных возбудителей) и 3 штамма (2,5%) коагулазонегативных стафилококков. *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium* были получены по 3 клинических изолятов, что составило по 2,5% от всех выделенных возбудителей, полученных из отделяемого нижних дыхательных путей пациентов с инфекцией COVID-19.

Выводы. Этиологическая структура вторичных бактериальных пневмоний у пациентов с инфекцией COVID-19 была представлена как грамотрицательными, так и грамположительными микроорганизмами. Среди грамотрицательных микроорганизмов частым возбудителем вторичных бактериальных пневмоний являлась *K.pneumonia*. Однако этиологическими агентами вторичных пневмоний могут являться и другие представители семейства энтеробактерий, а также представители неферментирующих бактерий. Среди грамположительных возбудителей вторичных бактериальных пневмоний у пациентов с инфекцией COVID-19 преобладали стрептококки, реже стафилококки и энтерококки.

Литература

1. Абабий, И.И. Значения микробной флоры ротоглотки в развитии острых и хронических заболеваний верхних дыхательных путей / И.И. Абабий [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2020. – Т.10, № 2. – С. 359-367.
2. Миннуллин, Т.И. Иммунологические аспекты поражения коронавирусом SARS-CoV-2 / Т.И. Миннуллин [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2021. – № 2 (74). – С. 187-198.
3. Хамитов, Р.Ф. Острые респираторные инфекции в амбулаторной практике в эпоху COVID-19: роль и место антибактериальной терапии // Р.Ф. Хамитов / Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. – 2020. – Т.4, № 4. – С. 214-218.

СКРИНИНГ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФИЦИРОВАННОСТИ С ПОМОЩЬЮ ТЕСТА, ОСНОВАННОГО НА ВЫСВОБОЖДЕНИИ ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ COVID-19

Шаламовский В.В., Стринович А.Л., Суркова Л.К., Будник О.А., Бахтина А.Д.

РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии, Беларусь
Отдел лабораторной диагностики и лечения туберкулеза

Актуальность. Латентная туберкулезная инфекция (ЛТИ) – это состояние стойкого иммунного ответа на стимуляцию антигенами микобактерий туберкулеза (МБТ) при отсутствии клинико-лабораторных и рентгенологических признаков активного туберкулеза.

Считается, что у трети всего населения Земли имеется ЛТИ и существует огромный потенциал постоянной передачи и возникновения болезни. Риск развития туберкулеза в течение жизни для лиц с установленной ЛТИ составляет

5-10%, причем у большинства таких лиц туберкулез развивается в течение первых пяти лет с момента первичного инфицирования.

Для предотвращения инфицированности туберкулезом основополагающим фактором является точное определение и лечение не только активной формы заболевания, но и выявление и лечение лиц с латентной туберкулезной инфекцией, что является крайне важным для снижения туберкулезной нагрузки и предупреждения распространения данного заболевания среди населения [1].

В последние годы к диагностике латентной туберкулезной инфекции приковано особое внимание, в том числе благодаря внедрению различных новых иммунологических тестов [2].

До настоящего времени единственным убедительным свидетельством инфицирования МБТ без признаков активного туберкулеза остается реакция гиперчувствительности замедленного типа (проба Манту 2ТЕ ППД-Л), проявлением которой является реакция на туберкулин [3].

В последние годы появились новые диагностические тесты, основанные на измерении продукции гамма-интерферона Т-лимфоцитами крови в ответ на стимуляцию специфическими антигенами МБТ (ESAT-6 и CFP-10). Эти тесты, названные IGRA (*interferon gamma release assay*), позволяют более точно диагностировать ЛТИ.

Одним из таких тестов является тест-система QuantiFERON-TBGoldPlus (QFT-plus), которая обеспечивает точную оценку клеточно-опосредованного иммунного ответа на туберкулезную инфекцию как CD4+, так и CD8+ Т-клетками на специфические антигены с количественной оценкой результатов. Тест основан на принципах контакта лимфоцитов крови с высокоспецифическими антигенами МБТ ESAT-6 и CFP-10, включает пробирки TB1 для определения клеточного иммунного ответа CD4+ лимфоцитов (Т-хелперов) и TB2 – определяющей одновременно CD4+ и CD8+ Т-клеточный ответ [4].

11 марта 2020 г. ВОЗ объявил о начале пандемии Covid-19, интенсивность которой не снижается до настоящего времени.

Цель. Сравнительная оценка уровня распространения инфицирования микобактериями туберкулеза детского и взрослого населения с помощью иммунологического теста, основанного на высвобождении гамма-интерферона в условиях пандемии Covid-19.

Материалы и методы исследования. Проведен ретроспективный анализ результатов тестирования инфицирования МБТ детского и взрослого населения в период с января по июнь 2021 года в разных возрастных группах (n=364) и аналогичный период 2019 г. (n=523) с использованием теста QFT-Plus (Qiagen, Германия).

Тестирование ТБ-инфекции и оценка результатов проводилась согласно инструкции производителя у лиц, направленных на консультацию и/или проходящих обследование в ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии». Результаты теста интерпретированы согласно критериям производителя

тест-системы. Уровень гамма-интерферона определялся методом ELISA в международных единицах (IU/мл).

Среди обследованных лиц взрослого населения за 2021 г. в возрасте от 21 года до 90 лет составили 80,2% (292/364) по сравнению с 55,29%. (289/523) в 2019 г. Соотношение мужчин и женщин в разные годы составило 1,2:1 и 1,3:1 соответственно.

Статистическую обработку материала проводили с использованием программы Statistica 10.0. Использовали параметрические и непараметрические критерии, метод доверительных интервалов, коэффициент Пирсона (χ^2). Различия в сравниваемых группах считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Положительные результаты QFT-Plus получены в 2021г. у 21,98% (80/364) (95% ДИ 17,7-26,3) лиц взрослого и детского населения и у 23,12% (121/523) (95% ДИ 19,5-26,7) в 2019 г. В разные годы у 3,02% (11/364) и 3,05 (16/523) лиц результаты тестирования QFT-Plus были расценены как сомнительные, что может быть связано с нарушением правил тестирования (неправильный забор крови или несвоевременная доставка и неправильное хранение емкостей).

Анализ результатов тестирования инфицирования МБТ в зависимости от возраста выявил значительную вариабельность частоты инфицирования в разных возрастных группах.

В возрасте от 0 до 5 лет частота положительных результатов была низкой и составила 2,5% (2/80), к 10-15 годам частота инфицирования МБТ возрастала до 5,0% (4/80), однако к 16-20 годам число положительных результатов снизилось до 3,75% (3/80). В возрастной группе 6-9 лет отмечался наиболее низкий показатель инфицированности – 1,25% (1/80). В возрастной группе лиц 21-25 и 26-30 лет частота туберкулезного инфицирования находилась на низком уровне и составила 6,25% (5/80). В возрастных группах старше 30 лет наблюдался постепенный рост инфицированности МБТ, так в группе 31-40 она составила 7,5% (6/80), в группе 41-50 – 10% (8/80), в группе 51-60 – 16,25% (13/80). В возрастной группе 61-70 лет отмечен наиболее высокий уровень – 28,75% (23/80).

Суммарно, в детском и подростковом возрасте от 0-15 лет инфицирование МБТ составило 8,75% (7/80), у лиц старше 30 лет – 75% (60/80), давая различные колебания в разных возрастных группах. Считается, что с возрастом туберкулезная инфицированность будет нарастать вследствие экзогенного инфицирования МБТ.

При сравнительной оценке частоты положительных результатов теста QFT-Plus в разных возрастных группах мужчин и женщин (n=80) выявлены достоверные различия по частоте положительных результатов теста QFT-Plus у мужчин в возрастных группах 41-50 лет – 7,5% против 1,25%, 51-60 лет – 8,75% против 3,75%, 61-70 лет – 15% против 10% и 71-80 лет соответственно 7,5% и 3,75% ($p < 0,05$).

По данным IGRA-тестирования положительные результаты QFT-Plus в период с января по июнь 2021 г. имели некоторые различия с аналогичным

периодом 2019 г. В 2019г. были отмечены различные уровни инфицирования МБТ со снижением в возрастной группе 31-40 – 23,36% (25/107), в группе 41-50 – 11,2% (12/107), в группе 51-60 – 4,67% (5/107) ($p < 0,05$).

В 2021 г. наиболее высокая частота выявления туберкулезного инфицирования была в возрастной группе 61-70 лет – 28,75% (23/80), в отличие от 2019 г., где высокий показатель приходился на возрастную группу 31-40 лет (23,36% (25/107)). Самый низкий показатель среди положительных результатов за период 2021г. наблюдался в возрастной группе 6-9 лет (1,25% (1/80)), в то время как за 2019г. низкий показатель зафиксирован в возрастной группе 21-25 лет (0,93% (1/107)).

Несмотря на значительную вариабельность положительных результатов теста QFT-Plus в различных возрастных группах за сравниваемые периоды 2021 г. и 2019 г, общая инфицированность МБТ оставалась на уровне – 21,98% и 23,12% соответственно ($p > 0,05$, различия статистически не достоверны).

Выводы.

1. На территории Республики Беларусь частота распространенности инфицирования микобактериями туберкулеза лиц детского и взрослого населения составляет 21,98%, выявлена значительная вариабельность частоты инфицирования в разных возрастно-половых группах.

2. В условиях пандемии Covid-19 отмечается смещение уровня инфицированности населения на более старшие возрастные группы 61-70 лет.

Литература

1. Всемирная организация Здравоохранения. Руководство по ведению пациентов с латентной туберкулёзной инфекцией. – Женева, 2015.

2. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению латентной туберкулёзной инфекции у детей. Клинические рекомендации разработаны Рабочей группы по специальности «Фтизиатрия» при главном внештатном детском специалисте фтизиатре Минздрава России под редакцией профессора В.А. Аксёновой. – М. 2013.

3. Баронова О.Д., Аксенова В.А., Клевно Н.И., Одинец В.С. Латентная туберкулезная инфекция среди студентов, обучающихся в высших учебных заведениях // Туберкулез и болезни легких. – 2020. – Т. 98, № 3 – С. 27-31.

4. Barcellini L., Borroni E., Brown J., Brunetti E., Codecasa L., Cugnata F., Dal Monte P., Di Serio C., Goletti D., Lombardi G., Lipman M., Rancoita PU., Tadolini M., Cirillo A M. / First independent evaluation of QuantiFERON-TB Plus // Eur. RespirJ. – 2016. – Vol. 47. – P.1587-1590.DOI: 10.1183/13993003.02033-2015.

РОЛЬ S, N, M, E БЕЛКОВ В РАЗВИТИИ SARS-COV-2 ВАКЦИН

Шейбак В.М., Горецкая М.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

Актуальность. Секвенирование генома коронавируса в январе 2020 года показало, что SARS-CoV-2 на 96% идентичен геному RaTG13 коронавируса летучих мышей (*BatCoV*) рода *Rhinolophus affinis*, на 80% идентичен геному

SARS-CoV [5] и на 50% идентичен геному *MERS-CoV* [1]. Исследования по установлению происхождения *SARS-CoV-2*, показали, что случайные мутации и рекомбинация – два основных источника генетического разнообразия этого вируса. Наиболее частыми типами мутаций в геноме *SARS-CoV-2* являются синонимичные и миссенс-мутации, кроме того, выявлены мутации других типов: нонсенс-мутации, вставки, делеции. Обнаружено, по крайней мере, семь генетически независимых клонов, которые приобрели мутацию в одном конкретном месте *Q677H* или *Q677P* гена шипового белка *Spike* вируса [1]. РНК-вирусы имеют более высокую мутационную нагрузку в результате более короткого времени репликации [5].

Геном коронавирусов представляет собой одноцепочечную молекулу (+) РНК и является самым большим из всех известных геномов РНК-вирусов. 5'-конец молекулы РНК коронавируса содержит две перекрывающиеся открытые рамки считывания (*ORFs*): *ORF 1a* и *ORF 1b*, охватывающие две трети длины генома. *ORF 1a* и *ORF 1ab* могут быть транслированы в два полипротеина (*pp*), *pp1a* и *pp1ab*, которые далее расщепляются на 16 неструктурных белков, участвующих в репликации вирусного генома и синтезе субгеномной мРНК. 3'-конец цепочки РНК коронавируса кодирует четыре основных структурных белка в следующем порядке: спайковый белок (*spike – S*), белок оболочки (*envelope – E*), белок мембраны (*membrane – M*) и белок нуклеокапсида (*nucleocapsid – N*). Белки *S*, *E*, *M* формируют оболочку коронавируса, в то время как белок *N* образует капсид для упаковки геномной РНК. 3'-конец нити РНК также кодирует множество вспомогательных белков, которые, как правило, являются родоспецифичными и помогают вирусу избегать клеток иммунной системы человека или, повышают его вирулентность [2].

Цель. По данным литературы дать оценку потенциала *S*-, *N*-, *M*-, *E*-структурных белков вируса в разработке *SARS-COV-2* вакцин.

Белок *S* (молекулярная масса 140 кДа) из 1273 аминокислот, представляет собой трансмембранный белок (гомотример), который облегчает связывание коронавируса с рецепторами ангиотензинпревращающего фермента 2 (*ACE2*), экспрессируемыми на поверхности клеток-хозяев. Связываясь с рецептором *ACE2* *S* белок подвергается праймированию трансмембранной сериновой протеазой (*TMPRSS2*), которая расщепляет *S* белок на две субъединицы, *S1* и *S2*, во время проникновения вируса в клетку-хозяина при слиянии мембран. Субъединица *S1* длиной 193 аминокислоты (остатки 318–510) содержит два домена, включая *N*-концевой домен и *C*-концевой домен. Рецептор-связывающий домен (*RBD*) расположен в *C*-концевом домене, который отвечает за связывание с клеточным рецептором *ACE2* [6].

RBD является наиболее сложным компонентом генома коронавируса [5]. В настоящее время большинство разрабатываемых субъединичных вакцин против *SARS-CoV-2* основаны на рецептор-связывающем домене *RBD* [6]. Известно, что субъединица *S1* *MERS-CoV*, в комплексе с адьювантом *MF59*, может оказывать защитный эффект от летального исхода за счет формирования более высокого титра нейтрализующих антител.

Субъединица *S2* содержит аминокислоты от 1055 до 1192, содержит компоненты, которые отвечают за слияние вирусной мембраны и мембраны клетки-хозяина. В состав субъединицы входят слитый пептид внутренней мембраны (*FP*), два 7-пептидных повтора (*HR*), проксимальная к мембране внешняя область (*MPER*) и трансмембранный домен (*TM*). Так же *S2*-субъединица содержит эпитопы для индукции нейтрализующих антител, а также иммунодоминантные Т-клеточные эпитопы. *FP* необходим для слияния мембран вируса с клетками-хозяевами, что делает его эффективным антигеном-кандидатом для создания вакцины. В Китае разработана экспериментальная вакцина с использованием слитого белка *RBD-FP*, которая индуцирует высокий титр антител в модели на животных [6].

Белок *S*, находясь на поверхности, может непосредственно распознаваться иммунной системой хозяина. Кроме того, белок *S*, вероятно, очень иммуногенен, поскольку способен индуцировать более высокий титр нейтрализующих антител [6]. Возможность использования нескольких нейтрализующих эпитопов делает белок *S* многообещающим антигеном для вакцины против *SARS-CoV-2*. В свою очередь фрагменты белка *S*, среди которых рецептор-связывающий домен *RBD*, субъединица *S1*, *N*-концевой домен и слитый пептид внутренней мембраны *FP*, являются потенциальными кандидатами для разработки вакцин [3-6].

Белок *N* (молекулярная масса 50 кДа) – это самый распространенный белок среди коронавирусов с высоким уровнем консервативности [5], играет решающую роль в образовании нуклеокапсидов, почковании вируса, передачи сигнала, репликации РНК и транскрипции мРНК [6]. Белок *N* прикрепляется к вирусному геному и участвует в репликации РНК, формировании вирионов и уклонении от иммунитета [5]. Этот консервативный белок также известен как иммунодоминантный антиген, который может вызывать защитные иммунные ответы против коронавирусной инфекции. Более того, антитела к белку *N* *SARS-CoV* выявляются у 89% пациентов с инфекцией *SARS* [6]. Несмотря на то, что у пациентов вырабатываются антитела против белка *N*, его использование в вакцинации остается противоречивым. Некоторые исследования продемонстрировали сильные *N*-специфические гуморальные и клеточные иммунные ответы, в то время как другие показали незначительный вклад *N*-белка в продукцию нейтрализующих антител [4]. Тем не менее, вирусная векторная вакцина, экспрессирующая белок *N*, обладает способностью индуцировать $CD4^+$ Т-клеточный иммунный ответ против *SARS-CoV* и *MERS-CoV*, что свидетельствует о возможности создания на основе белка *N* вакцины, позволяющей получить клеточный иммунитет против коронавирусов [2].

Белок *M* (молекулярная масса 25кДа) является наиболее распространенным трансмембранным гликопротеином *SARS-CoV-2*, который играет роль в сборке вируса. Этот белок содержит три разных домена, включая короткий *N*-концевой эктодомен, трансмембранный домен с тройным охватом и большой внутренний *C*-концевой домен [5, 6]. Иммунизация белком *M*, вызвала образование эффективных нейтрализующих антител у пациентов с *SARS*.

Структурный анализ трансмембранной части белка *M* выявил кластер Т-клеточных эпитопов, который обеспечивает индукцию сильного клеточного иммунного ответа против *SARS-CoV*, т.е. он может быть полезным антигеном в разработке *SARS-CoV-2* вакцины [4].

М-белки могут индуцировать синтез нейтрализующих антител. Рекомбинантный белок *M*, экспрессируемый в *Pichia Pastoris*, также демонстрирует надлежащий потенциал в обеспечении защитных гуморальных ответов по сравнению с *SARS-CoV*. Более того, анализ данных предполагает, что трансмембранный домен белка *M* имеет кластер Т-клеточных эпитопов, который может вызывать мощный клеточный иммунный ответ [6]. Но в то же время результаты некоторых доклинических испытаний не показали ни образование нейтрализующих антител, ни развитие иммунитета [2].

Известные два основных иммунодоминантных эпитопа белка *M* расположены в крайнем *N*-концевом регионе (остатки 1–31) и во внутреннем *C*-концевом локусе (остатки 132–161), соответственно. Полученные синтетические пептиды *M1-31* и *M132-161* продемонстрировали способность индуцировать высокие титры нейтрализации антител в экспериментальных моделях на животных. Все эти данные предполагают, что этот высококонсервативный белок может быть антигеном-кандидатом для разработки вакцины против *SARS-CoV-2* [6].

Белок *E* (молекулярная масса 8,4кДа) – представляет собой небольшой интегральный мембранный белок из 76-109 аминокислот [6]. Белок *E* отвечает за критические аспекты жизненного цикла вируса, включая сборку, почкование, формирование оболочки и патогенез. Белок *E*, как важный фактор вирулентности *SARS-CoV*, может индуцировать выработку провоспалительных цитокинов, таких как *IL-1*, *TNF* и *IL-6*. Следовательно, этот антиген может быть кандидатом для вакцины. Однако по сравнению с другими антигенами *SARS-CoV-2*, такими как *S*, *N* и *M*, этот белок, вероятно, не может считаться подходящим кандидатом в иммуноген [5, 6]. Считается, что по сравнению с белками *S*, *N* и *M*, белок *E SARS-CoV-2* не перспективен для разработки вакцины, поскольку его структура и небольшое количество вряд ли вызовет существенный иммунный ответ [4].

Выводы. Таким образом, в качестве базовых соединений для разработки вакцин проанализированы структурные белки коронавируса. Белок *S* является идеальной целевой структурой для создания вакцин, эффективно индуцирующих синтез нейтрализующих антител и обеспечивающих формирование иммунитета. Вакцины на основе белка *N*, как правило, не могут индуцировать выработку эффективных нейтрализующих антител, поскольку белок *N* не экспонирован на поверхности коронавируса. Однако, использование белка *N* может быть полезно для индукции Т-клеточного иммунитета. Присутствие высоких титров антител у иммунизированных животных было показано для вакцин на основе *M*-белка. В то же время результаты доклинических испытаний не продемонстрировали ни образование нейтрализующих антител, ни развитие иммунитета. Что касается белка

E вируса, к настоящему времени проведенные малочисленные исследования не выявили образование нейтрализующих антител или формирования защитного иммунитета.

Литература

1. Новикова И. А., Генетическая характеристика вируса SARS-CoV-2 // «Живые и биокосные системы». – 2021. – № 35. – URL: <https://jbks.ru/archive/issue-35/article-4/>.
2. Разработка вакцин для профилактики коронавирусной инфекции: от SARS и MERS до COVID-19 / Й. Д. Ли, В. Ю. Чи, Ц. Х. Су [и др.] // *Juvenis Scientia*. – 2020. – Т. 6. – № 6. – С. 41-80.
3. Bakhiet, M. SARS-CoV-2: Targeted managements and vaccine development // M. Bakhiet, S. Taurin//*Cytokine Growth Factor Rev*. – 2021. – V. 58. – P. 16–29.
4. Chung, J.Y. COVID-19 vaccines: The status and perspectives in delivery points of view // J.Y. Chung, M.N. Thone, Y.J. Kwon //*Adv Drug Deliv Rev* – 2021 –V.170. –P. 1-25.
5. Mohamadian, M. COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis // M. Mohamadian, H. Chiti, A. Shoghli [et al.] //*J Gene Med*. – 2021. – 23(2). – P. e3303.
6. Soleimanpour, S. COVID-19 vaccine: where are we now and where should we go? / S. Soleimanpour, A. Yaghoubi //*Expert Rev Vaccines*. – 2021. – 20 (1). – P. 23-44.

ПОКАЗАТЕЛИ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ И ТЕЧЕНИЕ РАННЕГО НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА У ДЕТЕЙ ОТ МАТЕРЕЙ, ПЕРЕБОЛЕВШИХ В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ COVID-19

Шейбак Л.Н., Можджер В.В., Бык М.Г.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
2-я кафедра детских болезней

Актуальность. Как известно, 30 января 2020 г. ВОЗ объявила о чрезвычайной ситуации, связанной с вспышкой инфекции, получившей широкое распространение. Заболевание получило название COVID-19 (Corona Virus Disease), а сам вирус – SARS-CoV-2 [1, 2]. Основные пути передачи – воздушно-капельный и контактный. Предполагалась возможность инфицирования плода при заболевании матери во время беременности. Любое неблагополучие течения беременности у матери может привести к внутриутробной асфиксии, преждевременным родам и другим рискам для новорожденного [2]. Новорожденные могут быть затронуты вирусной инфекцией матери либо непосредственно вирусом (вертикальная передача), либо опосредованно из-за реакции матери на вирус. Ранее новорожденные были протестированы на наличие SARS-CoV-2 при родах и вирусная РНК не была обнаружена в пуповинной крови, мазках из горла и носоглотки, моче и кале. Образцы околоплодных вод также были собраны у беременных, положительных на COVID, и в большинстве случаев тесты на SARS-CoV-2 были отрицательными [3]. Неонатальный тест через 24 часа или более после родов редко дает положительные результаты на вирус; однако, возможно, младенцы инфицируются после родов. Между тем, несмотря на отсутствие вируса, обнаруженного у новорожденного при родах, антитела были обнаружены в крови новорожденных. В частности, сообщалось о повышении

уровня IgM, что свидетельствует о внутриутробном воздействии вируса на плод [4]. Важно отметить, что тестирование на антитела IgM приводит к высокой вероятности ложноположительных результатов.

Целью работы явился ретроспективный анализ показателей физического развития и особенностей течения раннего неонатального периода у доношенных новорожденных детей от матерей, имевших на момент родов положительный результат мазка из зева на ПЦР-тест SARS-CoV-2.

Материалы и методы исследования. Нами проведен анализ 53 историй развития новорожденных, родившихся в период с апреля 2020 г. по февраль 2021 г. в УЗ «ГК БСМП» г. Гродно. Данные дети родились от матерей, которые поступили на родоразрешение с положительным результатом ПЦР на SARS-CoV-2. Группой сравнения явились 15 доношенных новорожденных детей, матери которых имели отрицательный результат теста в период беременности.

Математическая обработка данных проводилась с помощью T-статистики и критерия Стьюдента. Статистически значимыми считались значения $p < 0,05$.

Результаты. Из 53 новорожденных детей от матерей с COVID-19 только 7 (13,7%) имели положительный ПЦР-тест на SARS-CoV-2. Клинические проявления внутриутробного инфицирования в виде дыхательных расстройств отмечались у 16 новорожденных (30,2%), что потребовало проведения антибиотикотерапии и оксигенотерапии. При этом только у 3 детей отмечались признаки врожденной пневмонии по R-грамме грудной клетки.

Выполненное на 3 сутки после рождения исследование мазка из зева у новорожденных на SARS-CoV-2 (Приказ № 1195 РБ от 11.11.2020 г.) позволило выявить 7 детей (13,2%) с положительным результатом. При этом клинические проявления врожденной пневмонии имели место только у 2 новорожденных детей. У 1 младенца от матери с положительным ПЦР-тестом на SARS-CoV-2 и врожденной пневмонией, подтвердившейся R-логическим исследованием грудной клетки, исследование на SARS-CoV-2 дало отрицательный результат.

По показателям физического развития при рождении доношенные новорожденные дети не отличались от детей из группы сравнения. Средняя масса тела у них составила $3382 \pm 84,4$ г ($p > 0,05$), длина тела $50,9 \pm 0,67$ см ($p > 0,05$), окружность головы $33,9 \pm 0,26$ см ($p > 0,05$). Плацентарно-плодовые коэффициенты в анализируемой группе и группе сравнения достоверно не отличались ($0,17 \pm 0,43$ и $0,17 \pm 0,01$, $p > 0,05$).

Из особенностей течения и выраженности пограничных состояний у доношенных новорожденных детей обращает внимание некоторое снижение показателей красной крови в пределах возрастной нормы. Так, в группе детей от матерей с положительным тестом на SARS-CoV-2, показатели красной крови в первые сутки после рождения составили: по содержанию эритроцитов – $5,65 \pm 0,11 \cdot 10^{12}/л$ (в контрольной группе – $6,20 \pm 0,19 \cdot 10^{12}/л$, $p < 0,05$), Hb – $201 \pm 2,64$ г/л (в контрольной группе – $217 \pm 4,78$ г/л, $p < 0,02$), Ht – $56,6 \pm 0,99$ (в контрольной группе – $60,2 \pm 1,55$, $p < 0,05$). Показатели MCV, MCHC, MCH и RDW в исследуемой и контрольной группах достоверно не отличались. Только

у 1 новорожденного ребенка из анализируемой группы была выявлена анемия, которая не потребовала гемокоррекции.

Следует отметить, что у детей от матерей с COVID – 19 в общем анализе крови, выполненном в первые часы жизни было снижено содержание лейкоцитов – $20,5 \pm 1,08 \cdot 10^9/\text{л}$ (в контрольной группе – $25,64 \pm 1,58 \cdot 10^9/\text{л}$, $p < 0,02$).

Из пограничных состояний адаптационного периода отмечалось некоторое увеличение выраженности физиологической желтухи. У 24 детей (45,2%) отмечалась иктеричность кожных покровов и им проводилась фототерапия. У данных новорожденных имело место повышение стартовых показателей общего билирубина в пуповинной крови $55,6 \pm 0,32$ мкмоль/л (в контрольной группе – $38,9 \pm 0,95$ мкмоль/л, $p < 0,001$).

У 20 доношенных детей из группы исследования (37,7%) отмечались гемorragии в кожу, что было несколько выше, чем в группе сравнения (26,6%), но достоверно не отличалось ($p > 0,05$).

Выводы. Таким образом, доношенные новорожденные дети от матерей с COVID – 19 не имеют специфических клинических проявлений инфицирования после рождения. Наличие положительного результата ПЦР-мазка у матерей на SARS-CoV-2 не определяет инфицированность новорожденного. Течение раннего адаптационного периода может сопровождаться расстройствами дыхания после рождения, которые, в основном, не имеют тяжелое течение. У детей от матерей с COVID – 19 наблюдается снижение показателей красной крови и лейкоцитов, которые не выходят за пределы возрастной нормы.

Литература

1. Зверева Н.Н., Сайфуллин М.А., Ртищев А.Ю. Коронавирусная инфекция у детей // Педиатрия. – 2020. – Т. 99. – № 2. – С. 270-278.
2. Тревисануто Д., Каваллин Ф., Кавичиоло М.Э. Коронавирусная инфекция у новорожденных // Неонатология. – 2020. – № 4. – С. 21-28.
3. Golden T.N., Simmons R.A. Maternal and neonatal response to COVID-19 // Am J Physiol Endocrinol Metab – 2020 – V. 19, N 2. – P.E315-E319.
4. Zeng H., Xu C., Fan J, Tang Y. X. Antibodies in infants born to mothers with COVID-19 pneumonia // JAMA – 2020. – V. 323. – P. 1848–1849.

ЧАСТЬ II

ВОПРОСЫ ПРЕПОДАВАНИЯ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ WIFI-ТЕХНОЛОГИИ В ОПРОСЕ СТУДЕНТОВ

Жмакин А.И.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

Актуальность. Современная микробиология стала производителем огромных объемов данных, осмысливание которых невозможно без привлечения современных информационных технологий и эффективных методов анализа получаемых знаний и их оценки в процессе обучения. Современная система профессионального образования переживает реформирование предусматривающее переход к уровневой подготовке. Реализация компетентного подхода должна предусматривать широкое использование в учебном процессе активных и интерактивных форм проведения занятий. Интерактивный – означает взаимодействовать, находиться в режиме беседы, диалога с кем-либо. Другими словами, интерактивное обучение – это, прежде всего, диалоговое обучение, в ходе которого осуществляется взаимодействие между студентом и преподавателем, между самими студентами. Следует обратить внимание на то, что в ходе подготовки занятия на основе интерактивных форм обучения, перед преподавателем стоит вопрос не только в выборе наиболее эффективной и подходящей формы обучения для изучения конкретной темы, а открывается возможность сочетать несколько методов обучения для решения проблемы, что, несомненно, способствует лучшему осмыслению студентами изучаемого материала. В учебном процессе в настоящее время применяются различные виды изложения учебного материала: информационная, проблемная, лекция-визуализация, с применением мультимедийного оборудования (наглядные материалы, слайды, презентации), лекция-диалог, лекция-пресс конференция [4].

На занятиях по дисциплине «Микробиология, вирусология и иммунология» применяются различные интерактивные методы обучения, повышающие познавательную учебную активность студентов, с учетом особенности дисциплины, индивидуальных характеристик студентов, их стремление к самосовершенствованию и к самообразованию. Оценка знаний студентов на занятии является важным элементом педагогического процесса в высшей школе и выполняет наряду с дидактической ещё и дисциплинирующую функцию, принуждая студента к систематической работе над усвоением учебного курса. Однако последнюю свою функцию опрос выполняет лишь при условии, что он является сплошным, т.е. каждый студент на каждом занятии отвечает и получает оценку своих знаний, что вынуждает студента готовиться к каждому занятию, прорабатывая последовательно все темы учебного курса –

ведь учебная активность студента является условием сознательного усвоения материала [1].

Но сплошной опрос студентов требует значительного времени, которым преподаватель не всегда располагает, то с целью экономии времени, количество вопросов, адресованное студенту, снижается, фатально снижается и объективность оценки, что моментально осознаётся студентами, вызывая их недоверие к работе преподавателя, что крайне негативно сказывается на качественной стороне педагогического процесса [2].

Для снятия этого противоречия с конца 90-х годов прошлого века в учебный процесс, прежде всего в США и Европе, стали внедряться беспроводные устройства, дистанционно связанные с персональным компьютером, что было призвано решать задачи оперативного опроса аудитории с практически мгновенной обработкой ответов и представлением преподавателю результатов опроса. Эти технологии получили название (дистанционные) системы опроса (response system или distant response system), однако, как более адекватный смысловой перевод предложен термин «система аудиторного опроса» («CAO») [3]. Однако, относясь к так называемым «кликерным» системам, в практическом применении CAO имеет много недостатков как чисто организационного характера, так и вследствие ограниченности своего функционала. С начала 2000-х гг. они претерпели некоторые усовершенствования и стали всё шире использоваться в университетах под названием «беспроводные аудиторные системы опроса» (CRS – classroom response system) [5]. Система состоит из персональных беспроводных пультов, приемника сигнала и аппаратно-программного комплекса, развернутого на персональном компьютере.

С развитием современных информационных технологий ситуация заметно изменилась в том отношении, что каждый студент располагает одним (или даже несколькими!) мобильными устройствами – смартфонами, планшетами. Передавать и получать информацию с них можно посредством мобильного интернета. Кроме того, использование при ответе личных компьютерных устройств вводит такую важную особенность ответа студента, как его анонимность, что обусловлено психологическими особенностями поведения индивидуума в большой группе обучаемых [6].

На кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга Гродненского государственного медицинского университета для опроса студентов на занятии разработан метод, основанный на Wi-Fi-технологии без доступа в интернет, что делает его совершенно бесплатным как для студентов, так и для преподавателей. Для этого в практикуме устанавливается роутер, создающий Wi-Fi-облако, в которое входит как компьютер преподавателя, выступающий в роли сервера, так и личные устройства студентов. На компьютере преподавателя устанавливается система Айрен (IREN, Interactive Remote Education Network) последней версии [7], обеспечивающая абсолютную кросс-платформенность и позволяющую вплотную приблизить компьютерный опрос студента к устному вопросу

преподавателя за счёт кооперации вопросов на выбор из одного или нескольких правильных ответов, вопросов на классификацию, соответствие, последовательность, а также вопросов с введением правильных ответов с клавиатуры (т. е. ответов открытого типа). Студенты отвечают, используя браузер, что обеспечивает для англоязычных студентов интерфейс на английском языке. При этом практически исключаются ответы типа «да-нет».

Мощности одного самого простейшего роутера достаточно для работы с академической группой студентов в 12-16 человек, при этом студенты опрашиваются одновременно, что позволяет сделать опрос исчерпывающим и всеобъемлющим по теме занятия (студенты могут отвечать на 100 вопросов за 50 минут). Преподаватель же, вместо рутинного устного опроса использует освободившееся время для разъяснения сложных вопросов темы занятия, а также на разборе ситуационных задач и практических примеров.

Литература

1. Гарунов М.Г., Вербицкий А.А., Алексеева Л.П. Активность личности в обучении // Вестн. высш. шк. – 1977. – № 4.
2. Зими́на Н.А. Доверие между преподавателем и студентами как необходимый компонент учебно-воспитательного процесса в вузе // Концепт. – 2015. – № 07 (июль). – ART 15238. – 0,7 п. л. – URL: <http://e-koncept.ru/2015/15238.htm>. – ISSN 2304-120X.
3. Мачихина С.О. Активация учебной деятельности студентов на лекции с помощью мобильной системы аудиторного опроса. диссертация на соискание академической степени магистра образования. Институт математики, информатики и информационных технологий Уральского государственного педагогического университета. «44.04.01 – Педагогическое образование». Екатеринбург 2016.
4. Сорокина Е.И., Маковкина Л.Н., Колобова М.О. Использование интерактивных методов обучения при проведении лекционных занятий [Текст] // Теория и практика образования в современном мире: материалы III Междунар. науч. конф. (г. Санкт-Петербург, май 2013 г.). – СПб.: Реноме, 2013. – С. 167-169.
5. <https://www.edsurge.com/product-reviews/teacher-needs/classroom-response-system>.
6. Burton K. (2006). The trial of an audience response system to facilitate problem-based learning in legal education. In D.A. Banks (Ed.), Audience response systems in higher education (pp. 265–276). Hershey, PA: Information Science Publishing.
7. Программа тестирования знаний Айрен – Режим доступа: <http://irenproject.ru>. – Дата доступа: 06.04.2016 г.

Для заметок

Научное издание

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ МИКРОБИОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ И ИНФЕКТОЛОГИИ

*Сборник материалов
межвузовской научно-практической конференции*

29 октября 2021 г.

Ответственный за выпуск С. Б. Вольф

Компьютерная верстка И. И. Прецкайло, А. А. Хартанович
Корректурa М. В. Горецкой, Т. Н. Соколовой

Подписано в печать 02.11.2021.

Тираж **9** экз. Заказ **141**.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования

«Гродненский государственный медицинский университет»
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013. Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.